

## 4

### Resultados

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos no estudo da influência das resoluções espacial e temporal no mapeamento óptico por fluorescência de corante potenciométrico da atividade elétrica cardíaca e os efeitos da aplicação de filtros digitais em potenciais de ação ópticos com objetivo de reduzir o ruído e melhorar a resolução temporal.

Este capítulo foi dividido em quatro partes: Simulação da resposta elétrica de células cardíacas; Mapeamento óptico da fluorescência gerada pela atividade elétrica de corações isolados; Análise dos efeitos do processamento digital na morfologia de sinais experimentais e simulados; e Análise qualitativa e quantitativa da influência das resoluções espaciais e temporais.

#### 4.1

##### Simulação da resposta elétrica de células cardíacas

Em tecidos e órgãos, células excitáveis recebem e enviam sinais elétricos. Sinais de alta frequência, como os potenciais de ação de células nervosas e musculares, são mediados por mudanças das correntes elétricas na membrana da célula. Essas mudanças são causadas por pequenas alterações na condutividade da membrana permitindo a passagem de pequenas partículas carregadas ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}$ ), que possuem concentrações desiguais entre o meio celular externo e interno, através de canais iônicos. A utilização da técnica de *patch-clamp* em células cardíacas resultou no conhecimento do comportamento dos canais iônicos e suas propriedades. Desta forma, podem-se comparar as correntes iônicas geradas por meio de modelagem matemática com resultados experimentais de vários autores.

##### 4.1.1

##### Simulação de uma célula ventricular do coração de coelho

No presente trabalho foi desenvolvido um modelo matemático que reproduz o potencial de ação de uma célula do músculo do ventrículo do coração de coelhos com frequência de disparo de aproximadamente 2Hz, potencial de repouso  $V_0 = -83mV$  com uma taxa de despolarização de 250mV/ms e duração do potencial de ação de 180ms [40-44,65-67].

As correntes iônicas implementadas no modelo apresentam forma e valores que condizem com resultados experimentais da literatura obtidos em medições de uma única célula cardíaca [40-42,44]. Da mesma forma, a curva da variação temporal da concentração intracelular de cálcio do modelo possui a forma triangular e valores coincidentes com resultados experimentais descritos na literatura [40,41,43,68]. No entanto, como o foco desta modelagem é no comportamento médio dos canais iônicos e concentrações intracelulares de íons, a mesma não inclui informações morfológicas tais como a formulação Markoviana dos canais de cálcio, utilizada para descrever concentrações intracelulares localizadas, como os picos de cálcio (*calcium spikes*) [22,40,69].

A Figura 14 apresenta o potencial de ação gerado pela simulação e as correntes iônicas utilizadas no modelo desenvolvido neste trabalho para reproduzir o potencial de ação celular. Todas as correntes mostraram resultados compatíveis, apresentando mesma forma e magnitude quando comparadas às observadas na literatura. As concentrações intracelulares dos íons de  $Na^+$ ,  $K^+$  e  $Ca^{2+}$  também apresentaram valores e formas condizentes com resultados de outros autores [40,42-44].

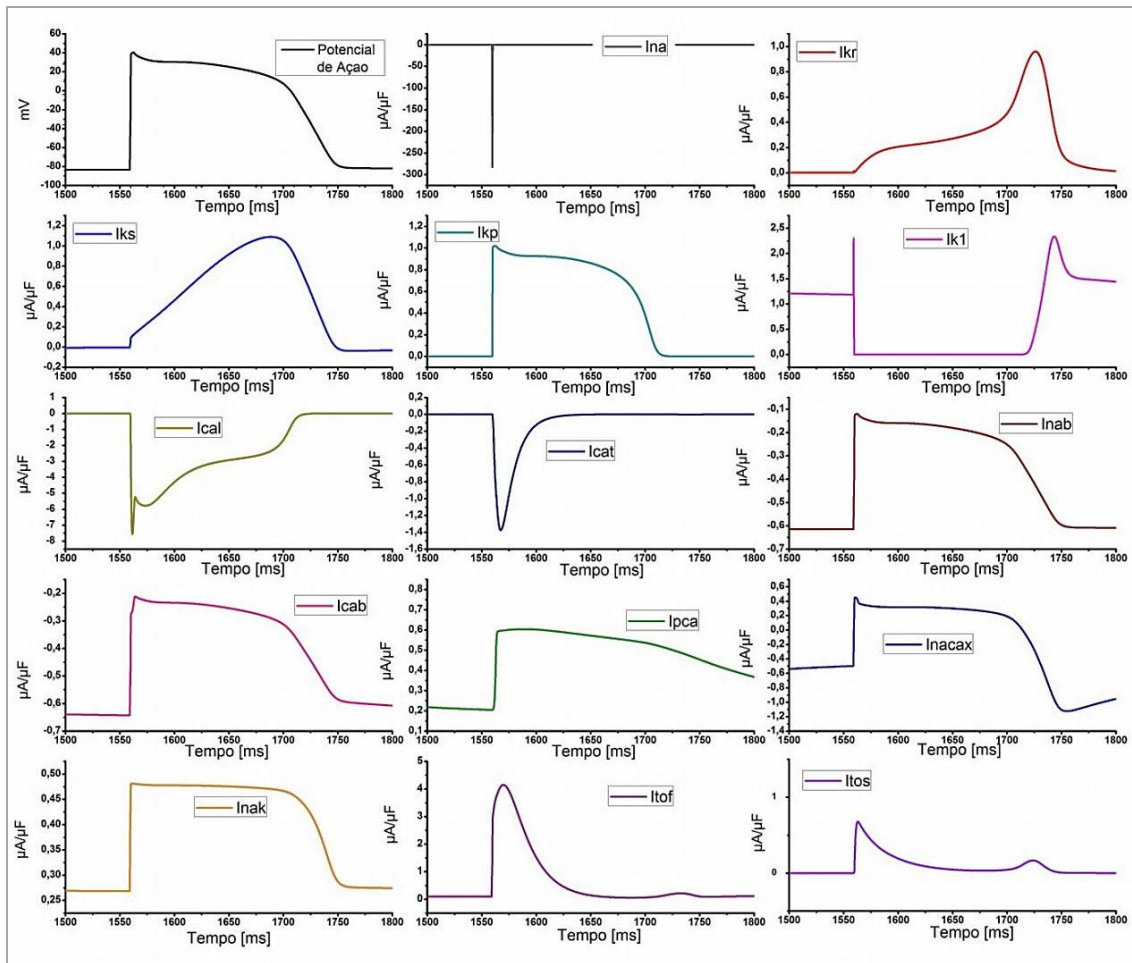


Figura 14: Potencial de ação e correntes iônicas gerados por meio de modelagem matemática.  $I_{Na}$ : Corrente de sódio rápida;  $I_{Kr}$ : Corrente de potássio ativada rapidamente;  $I_{Ks}$ : Corrente de potássio ativada lentamente;  $I_{Kp}$ : Corrente de potássio de Plateau;  $I_{K1}$ : Corrente de potássio independente do tempo;  $I_{Ca,L}$ : Corrente de cálcio que atravessa canais do tipo-L;  $I_{Ca,T}$ : Corrente de cálcio que atravessa canais do tipo-T;  $I_{Na,b}$ : Corrente de fundo de sódio;  $I_{Ca,b}$ : Corrente de fundo de cálcio;  $I_{pCa}$ : Corrente da bomba de cálcio do retículo sarcoplasmático;  $I_{NaCaX}$ : Fluxo pelo trocador sódio-cálcio;  $I_{Na,K}$ : Corrente da bomba sódio-potássio;  $I_{to,f}$ : Corrente transiente de saída rápida e  $I_{to,s}$ : Corrente transiente de saída lenta.

#### 4.1.2

### Simulação de um grupo de 125 células ventriculares do coração de coelho

O potencial de ação médio de um grupo de 125 células ( $AP_{avg}$ ) foi gerado pela combinação de 125 potenciais de ação da célula cardíaca por meio de modelagem matemática levando em consideração a anisotropia da velocidade de propagação do estímulo elétrico no tecido cardíaco, conforme descrito na seção 3.2.2.

O potencial de ação médio desse grupo de células apresenta diferenças quando comparado com o potencial de ação de uma única célula ( $AP_{cell}$ ), principalmente na velocidade de despolarização (*upstroke*). A Figura 15 mostra os potenciais de ação para uma célula e para o grupo de 125 células.

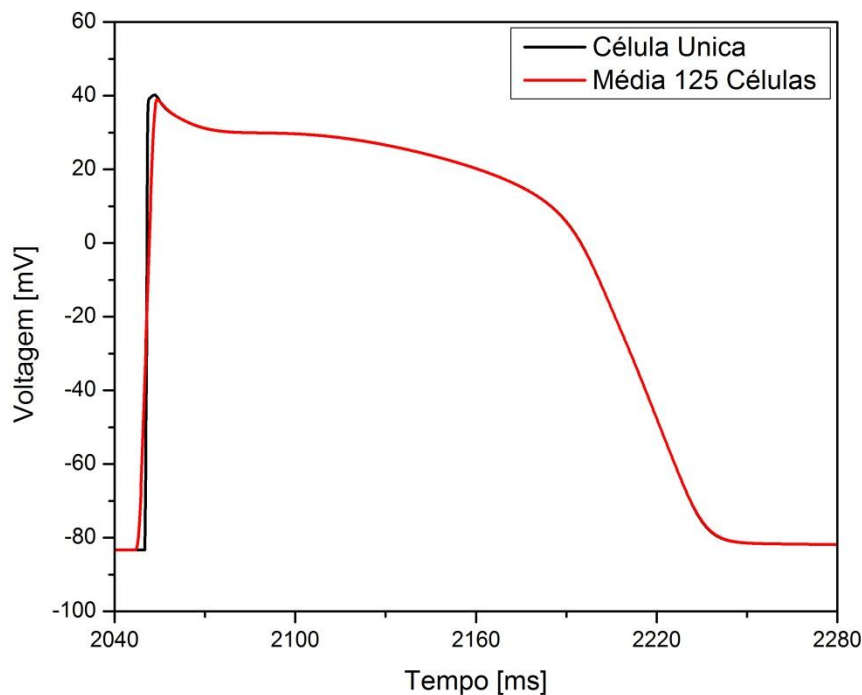


Figura 15: Comparação da forma do potencial de ação de uma única célula e do potencial de ação médio de um grupo de 125 células cardíacas.

As alterações observadas na forma do potencial de ação gerado pela integração espacial de um grupo de 125 células, o  $AP_{avg}$ , contribuem para a análise dos efeitos da resolução espacial na morfologia de potenciais de ação ópticos. Para avaliação destes efeitos morfológicos utilizou-se como parâmetro a derivada no tempo do potencial de ação dos sinais simulados para uma célula,  $AP_{cell}$ , e para o  $AP_{avg}$  de 125 células (Figura 16). A derivada do  $AP_{avg}$  apresenta alterações principalmente no início do registro, relacionadas ao *upstroke*, e no final, relacionadas à repolarização [70]. O registro temporal do  $AP_{avg}$  apresenta

uma velocidade de despolarização aproximadamente 20 vezes inferior (28 mV/ms) à do *upstroke* do  $AP_{cell}$  para uma célula; e duração do potencial de ação 5% maior do que a do  $AP_{cell}$ .

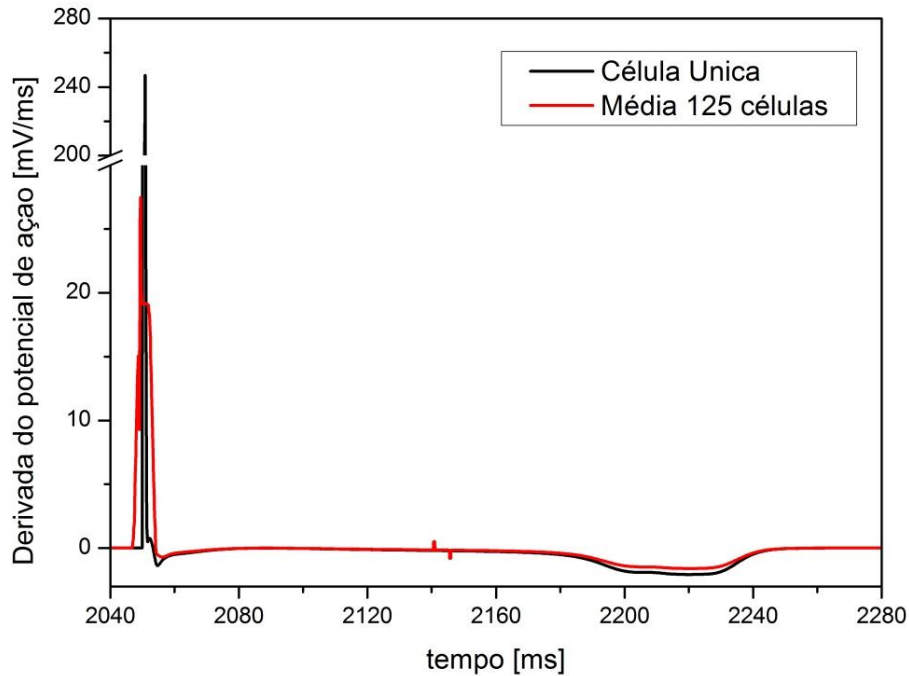


Figura 16: Derivada no tempo dos potenciais de ação simulados para uma célula,  $AP_{cell}$ , e para o  $AP_{avg}$  de 125 células. Os efeitos da integração espacial na morfologia do sinal são mais evidentes nas regiões do *upstroke* e da repolarização do potencial de ação.

A morfologia do *upstroke* é importante para a determinação da velocidade de condução superficial da frente de onda e sua orientação média no volume do tecido cardíaco. Portanto, alterações causadas no *upstroke* podem influenciar a interpretação eletrofisiológica de registros ópticos. A Figura 17 apresenta uma ampliação do registro dos potenciais de ação simulados, destacando a região de *upstroke* do  $AP_{cell}$  e do  $AP_{avg}$ . A inclinação e os limites do *upstroke* do  $AP_{avg}$  apresentaram diferenças em relação ao  $AP_{cell}$ . Utilizando uma aproximação linear do *upstroke*, calculou-se os coeficientes angulares e obteve-se a inclinação do *upstroke* para o  $AP_{avg}$  de 125 células ( $\Theta_{125}$ ) e para  $AP_{cell}$  de uma única célula ( $\Theta_1$ ). Os coeficientes angulares obtidos foram de  $\text{tg}(\Theta_{125}) = 17,45$  e  $\text{tg}(\Theta_1) = 101,42$ , correspondendo a um ângulo de inclinação do *upstroke* para o  $AP_{avg}$  ( $\Theta_{125}$ ) cujo o

coeficiente angular foi reduzido em aproximadamente 83% em relação ao coeficiente angular para a célula única ( $\Theta_1$ ).

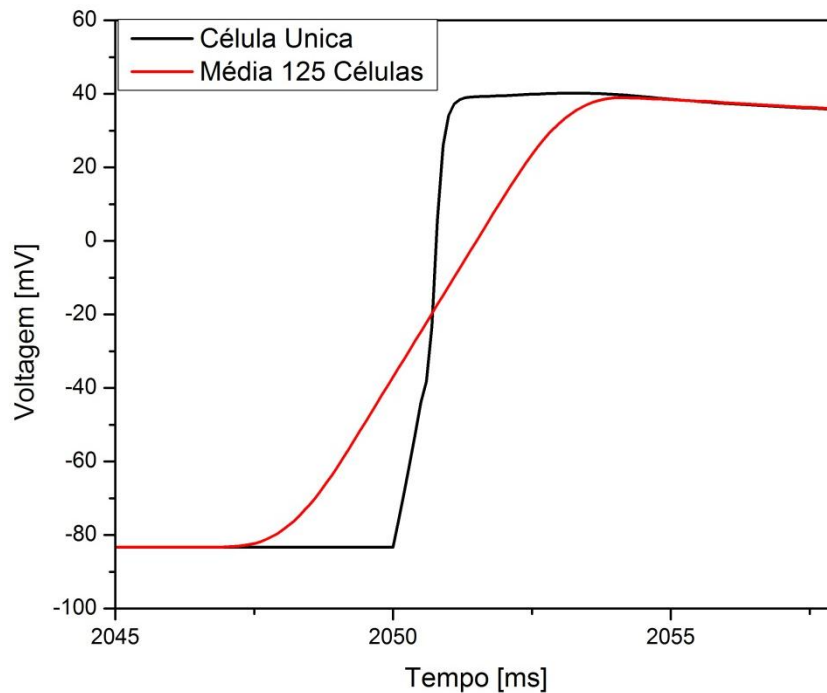


Figura 17: Comparação da forma dos *upstrokes* dos potenciais de ação para uma célula e para o grupo de 125 células.

A modelagem matemática desenvolvida não inclui a variação na distribuição do corante potenciométrico, fototoxicidade, espalhamento da luz, difusão da fluorescência e heterogeneidades do tecido gerando diferenças entre o potencial de ação simulado e o potencial de ação óptico. Desta forma, a comparação de resultados de mapeamento óptico e resultados simulados devem levar em consideração as limitações da modelagem [15-16,71-72].

## 4.2

### Mapeamento óptico da fluorescência gerada pela atividade elétrica de corações isolados

O mapeamento da atividade elétrica de corações isolados por meio de medições de fluorescência utilizando corantes potenciométricos requer sistemas com boa razão sinal-ruído, alta resolução temporal e espacial e corante com resposta rápida (milissegundos) [73]. Esta técnica possibilita o estudo da

propagação da atividade elétrica no tecido juntamente com a análise de potenciais de ação ópticos localizados.

Pode-se obter o potencial de ação óptico de um pixel do mapeamento por meio da razão entre as variações da fluorescência registrada e a fluorescência de base localizada:  $-\Delta F/F$ . A razão  $-\Delta F/F$  não reflete os valores absolutos do potencial da membrana, mas reproduz a forma da curva Voltagem x Tempo.

#### 4.2.1

### Resultados Experimentais

O mapeamento óptico da atividade elétrica de corações isolados de coelho foi realizado com objetivo de estudar a propagação elétrica e o potencial de ação óptico. Os mapas indicam o grau de ativação elétrica das células a partir do valor da fluorescência em cada pixel registrado.

A Figura 18 mostra uma sequência de 16 mapas da atividade elétrica de um coração isolado de coelho durante um processo de arritmia por condução anômala da atividade elétrica ventricular. Em cada mapa a cor vermelha indica as células que se encontram excitadas e a azul, as células que estão em repouso ou em estágio de repolarização. As formas geométricas apresentadas sobre os mapas indicam 10 pixels cujos registros são apresentados e analisados mais adiante. Nos instantes iniciais (Figura 18 A a D), a atividade elétrica ativa o átrio direito, visualizado na região superior dos mapas. De forma independente da ativação atrial, o ventrículo é despolarizado por meio de uma propagação circular característica de um fenômeno denominado de reentrada (Figura 18 A a Q). A propagação reentrante circula no sentido anti-horário, aproximadamente ao redor dos 10 pixels destacados. A sequência temporal dos 16 mapas da Figura 18 se inicia no instante 871,85ms (Figura 18A) e termina no instante 1024,62ms (Figura 18Q) com intervalo entre cada mapa de 10,18ms (5 quadros).

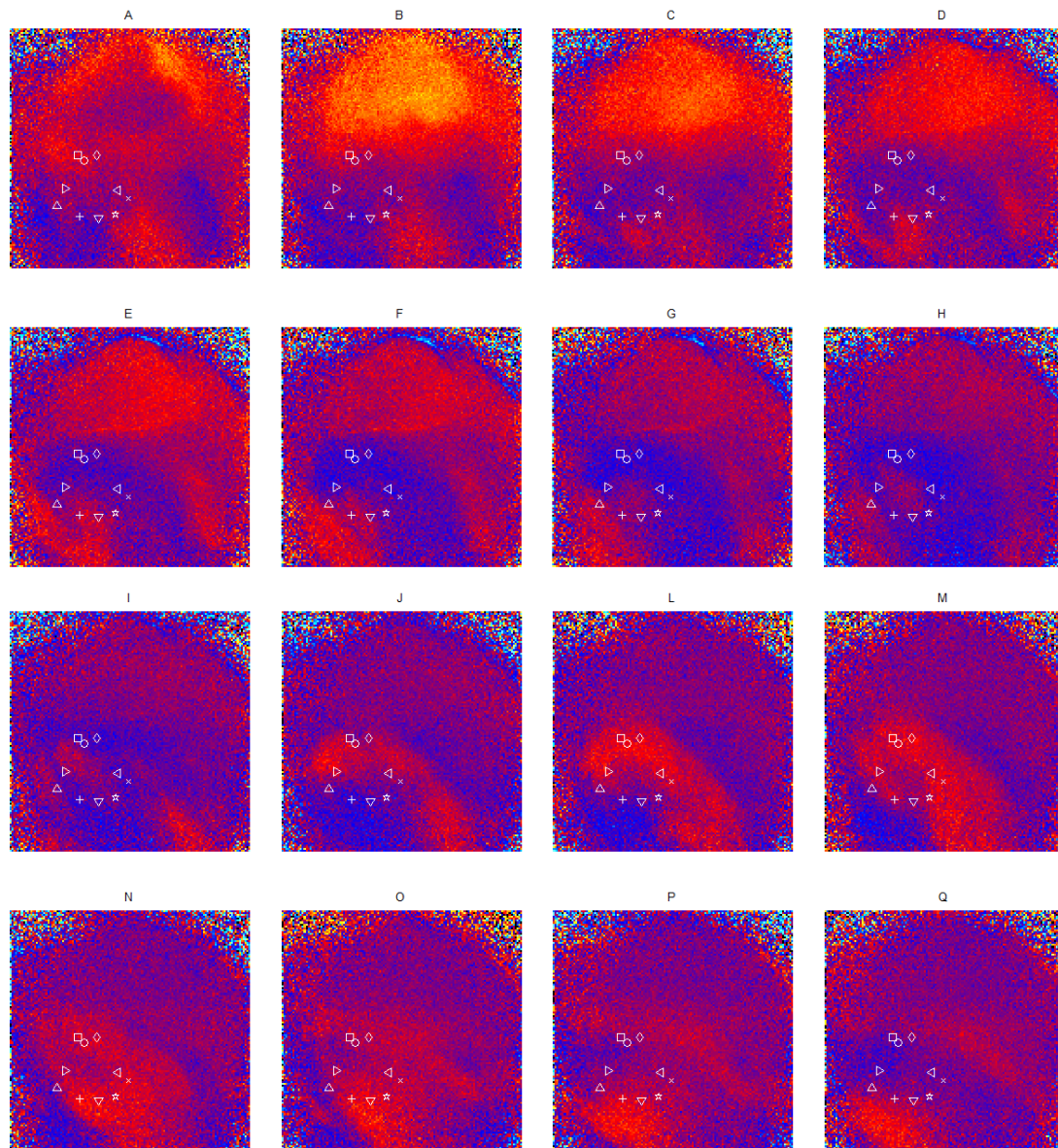


Figura 18: Mapas ópticos da ativação do tecido cardíaco com formas geométricas para indicando 10 pixels. Vermelho representa excitação e azul representa repouso ou em estágio de repolarização.

O registro temporal dos potenciais de ação ópticos (OAP – *optical action potential*) obtidos nos 10 pixels destacados nos mapas da Figura 18 estão apresentados na Figura 19. Sobre o registro temporal da fluorescência dos 10 pixels duas linhas marcam o instante A e o instante Q, que correspondem aos instantes do primeiro e último mapa apresentados na Figura 18.



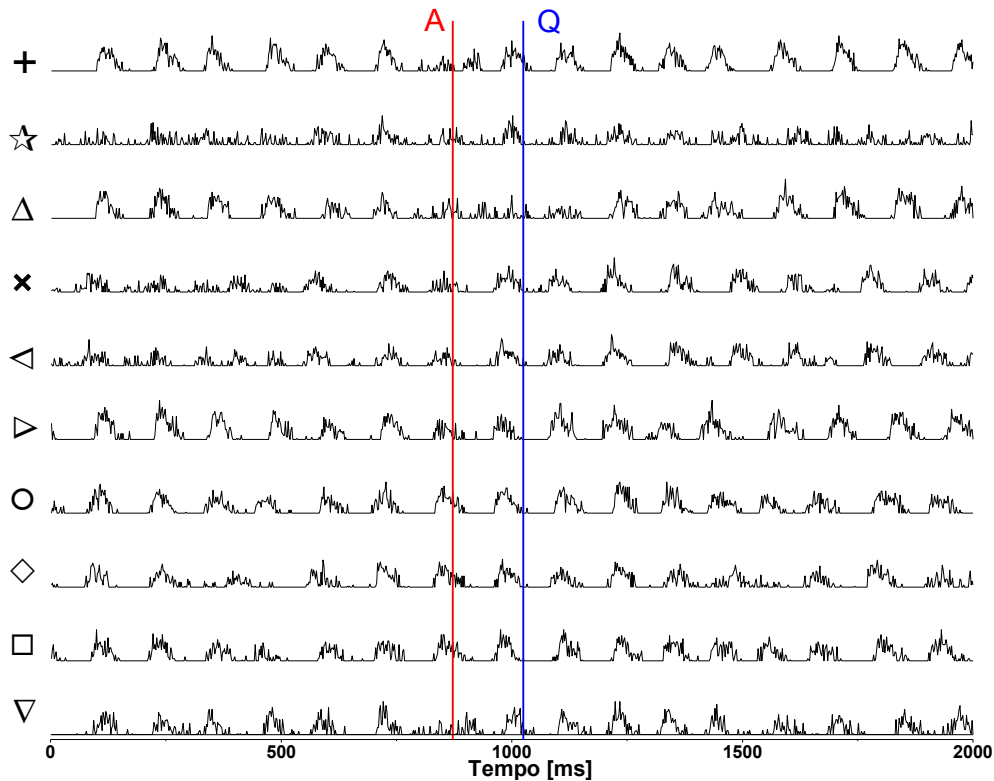


Figura 19: Potenciais de ação ópticos para os 10 pixels marcados na sequência de mapas de ativação apresentada na Figura 18. As linhas A e Q mostram o primeiro e o último mapa da sequência.

Por meio da visualização da propagação da atividade elétrica nos mapas apresentados na Figura 18 e da análise da morfologia dos potenciais de ação dos 10 pixels indicados nos mapas e apresentados na Figura 19, pode-se identificar bloqueios unidirecionais na condução da atividade elétrica em várias regiões do tecido. Entre os instantes J e N ocorre bloqueio de condução do pixel ▷ para o pixel △. No instante E ocorre bloqueio de condução da atividade elétrica do pixel ▽ para ☆. Outro exemplo de bloqueio unidirecional é o que ocorre entre os pixels ☆ e × durante os instantes J e L.

Os bloqueios unidirecionais, em especial o que ocorre entre os pixels ☆ e × durante os instantes J e L, são os fatores que determinam a ativação elétrica reentrante no sentido anti-horário.

Os sinais experimentais mostrados na Figura 19 apresentam ruídos tais que a análise de parâmetros de sua morfologia fica prejudicada. Desta forma é necessária a aplicação de filtros digitais para a redução do ruído experimental.

Adicionalmente, a taxa de amostragem do sinal experimental é baixa, o que também prejudica a análise de parâmetros da morfologia dos potenciais de ação ópticos e a aplicação de processamento digital para interpolar o sinal torna-se essencial.

### 4.3

#### **Análise dos efeitos do processamento digital na morfologia de sinais experimentais e simulados**

Neste trabalho os processamentos digitais foram implementados com os seguintes objetivos:

- Redução de ruído e melhora da resolução temporal para possibilitar a análise de parâmetros associados à morfologia do potencial de ação óptico,
- Binagem espacial para avaliação do efeito da redução da resolução espacial do mapa óptico na visualização da propagação da atividade elétrica e na morfologia do potencial de ação óptico.

#### 4.3.1

##### **Filtragem do Ruído e Melhora da resolução temporal**

Para a redução do ruído e melhora da resolução temporal do sinal experimental foi utilizada a combinação de um filtro Butterworth com dois processos de interpolação: *Cubic Spline* e *Spline Fit*. A análise dos efeitos desta filtragem digital abrangeu não apenas a avaliação da taxa de redução do ruído e melhora da taxa de amostragem, como também o estudo de sua influência na morfologia do potencial de ação.

O estudo das alterações causadas no sinal após aplicação do processamento digital foi realizado utilizando potenciais de ação simulados tanto para uma única célula ( $AP_{\text{cell}}$ ), quanto para um grupo de 125 células ( $AP_{\text{avg}}$ ).

##### 4.3.1.1 *Cubic Spline, Spline Fit e Butterworth*

Para a melhora da resolução temporal, dois processos de interpolação foram testados: *Cubic Spline* e *Spline Fit*. Os processamentos foram aplicados em potenciais de ação simulados para uma célula e para o grupo de 125 células. Os

dois métodos de interpolação foram utilizados nos potenciais de ação simulados com resolução temporal de 2,0ms, resultando em sinais simulados interpolados digitalmente com resoluções temporais de 0,1ms, 0,2ms, 0,3ms, 0,4ms, 0,5ms e 1,0ms.

A Figura 20 mostra os potenciais de ação simulados para um grupo de 125 células com resolução temporal de 2,0ms e processados com interpolações para resoluções temporais de 0,1ms, 0,2ms, 0,3ms, 0,4ms, 0,5ms e 1,0ms por meio de Cubic Spline e Spline Fit.

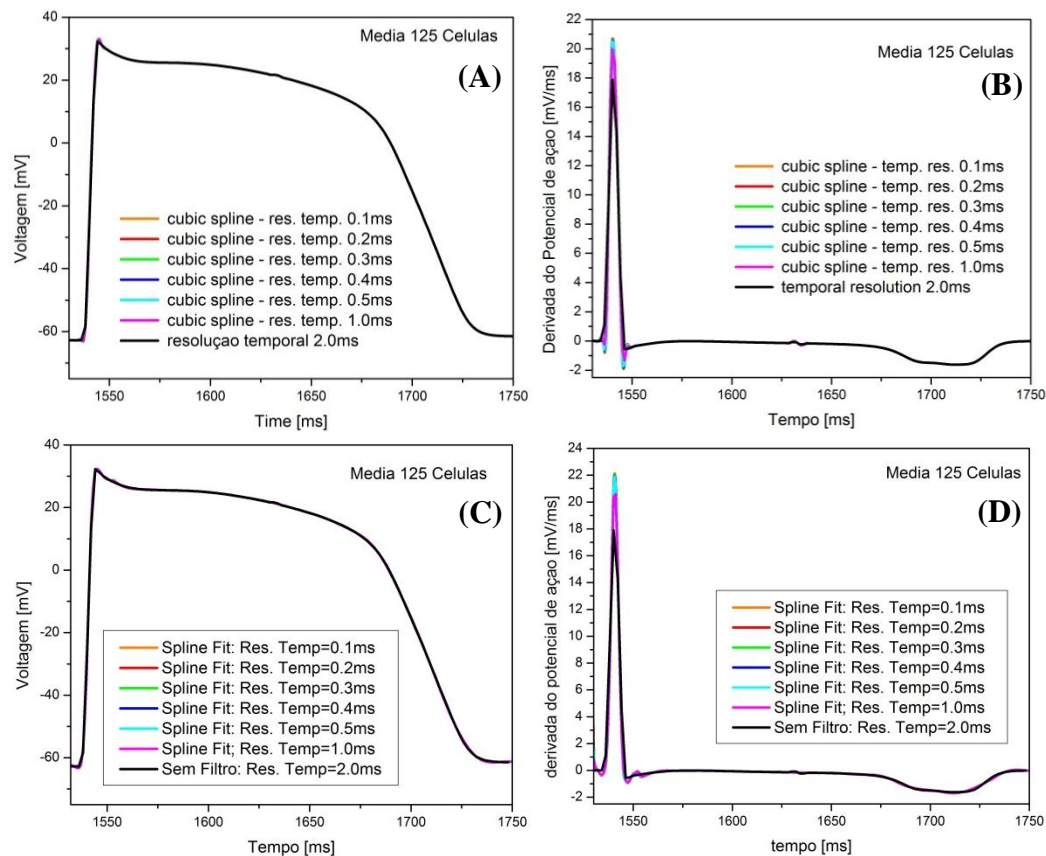


Figura 20: Potenciais de ação simulados para um grupo de 125 células,  $AP_{avg}$ , com resolução temporal de 2,0ms e processados com resoluções temporais de 0,1ms, 0,2ms, 0,3ms, 0,4ms, 0,5ms e 1,0ms por meio de Cubic Spline (A) e Spline Fit (B) e suas respectivas derivadas temporais (C e D).

Os potenciais de ação simulados  $AP_{avg}$ , processados para resoluções temporais de 0,1ms, 0,2ms, 0,3ms, 0,4ms, 0,5ms e 1,0ms por meio de Cubic Spline, não apresentaram diferenças entre eles e também não apresentaram alterações significativas quando comparados aos potenciais de ação simulados

com resolução temporal 2,0ms e sem processamento (Figura 20 A e C). O mesmo acontece para os potenciais de ação processados por meio de Spline Fit (Figura 20 B e D).

No entanto, o Spline Fit é um processo que permite a definição de valores diferentes do *break* (tamanho de cada divisão utilizada na interpolação como explicado na seção 2.3.2) para intervalos distintos do potencial de ação, apresentando uma pequena redução do ruído para pequenos *breaks*, e desta forma, permitindo a utilização de um filtro digital Butterworth para redução do ruído com frequência de corte maior, isto é, com menor atenuação dos componentes de alta frequência do *upstroke*.

Para determinação da melhor combinação de filtros para o processamento digital do sinal, foram utilizados potenciais de ação simulados para um grupo de 125 células com adição de ruído branco. Dois filtros Butterworth de ordem 4, com frequências de corte de 75 Hz e 88Hz, foram aplicados no sinal ruidoso e em seguida esses sinais foram interpolados por Spline Fit com *break* de 1600 para o *upstroke* e 300 para o resto do potencial de ação, resultando em um sinal processado com ruído reduzido e interpolado para uma resolução temporal de 0,1ms.

A Figura 21 apresenta os  $AP_{avg}$  simulados para um grupo de 125 células, com resolução temporal de 0,1ms e 2,0ms, com adição de ruído e resolução temporal de 2,0ms e processamento digital por Butterworth e Spline Fit para uma resolução temporal final de 0,1ms; e suas respectivas derivadas. Os sinais processados apresentam ruído reduzido, boa resolução temporal final e leves alterações na morfologia do potencial de ação e sua derivada.

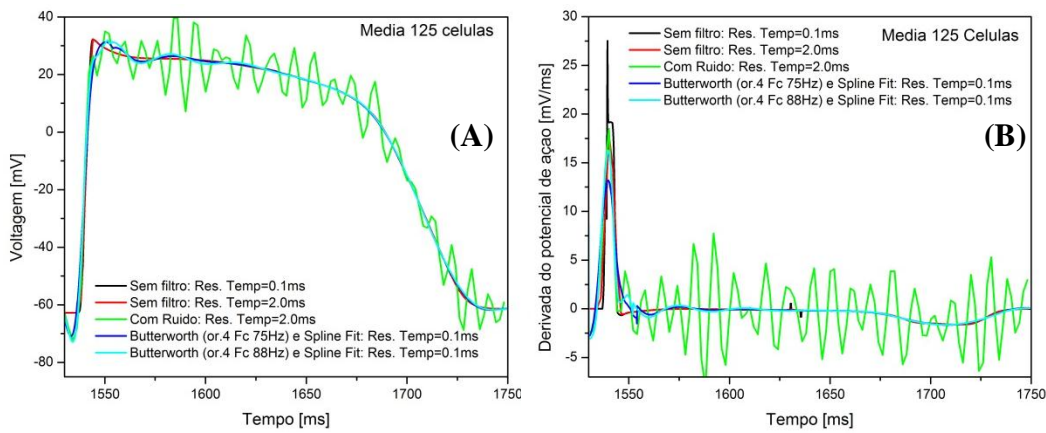


Figura 21: Potenciais de ação médios simulados com resolução temporal de 0,1ms e 2,0ms, com adição de ruído e resolução temporal de 2,0ms e processamento digital por Butterworth, com duas frequências de corte (75Hz e 88Hz) e Spline Fit com resolução temporal final de 0,1ms (A); e suas respectivas derivadas (B).

A Figura 22 apresenta uma ampliação dos os  $AP_{avg}$  apresentados na Figura 21, com foco nos *upstrokes* dos potenciais de ação. Na Figura 22 está indicado cada ponto das curvas apresentadas. O  $AP_{avg}$  simulado para 125 células, com resolução temporal de 0,1ms, é utilizado como referência para os outros sinais. O processamento digital foi realizado pela aplicação do Butterworth, seguida da interpolação por Spline Fit com um resolução temporal obtida digitalmente de 0,1ms.

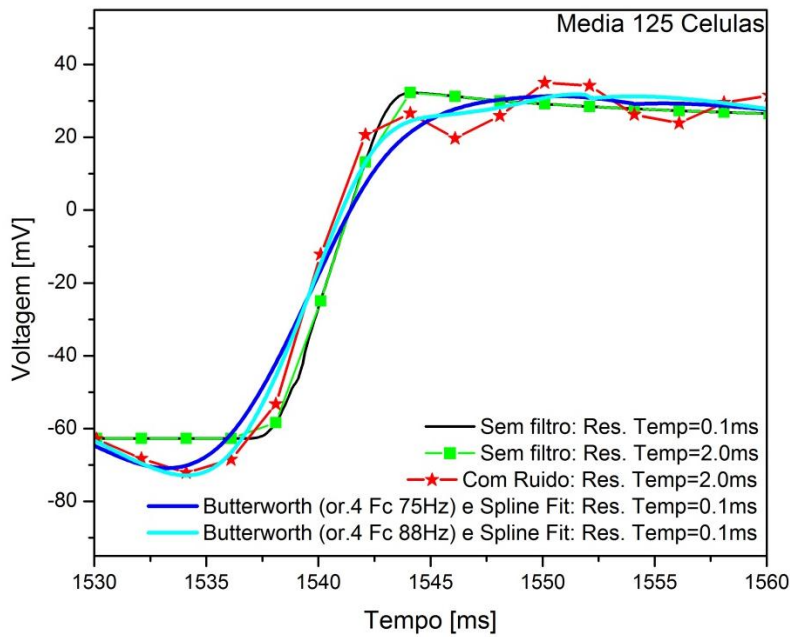


Figura 22: Ampliação dos sinais nos *upstrokes* dos potenciais de ação médios simulados com resolução temporal de 0,1ms e 2,0ms, com adição de ruído e resolução temporal de 2,0ms e processados digital por Butterworth com duas frequências de corte (75Hz e 88Hz) e Spline Fit com resolução temporal final de 0,1ms.

A melhor combinação de redução do ruído e interpolação do sinal foi alcançada pela aplicação do filtro Butterworth de ordem (or.) 4 e frequência de corte (Fc) 88Hz, seguida pela aplicação de uma interpolação Spline Fit com *break* de 1600 para o *upstroke* e 300 para o resto do potencial de ação, resultando em um sinal processado com ruído reduzido e resolução temporal de 0,1ms [70].

#### 4.3.1.2 Potenciais de ação ópticos

A combinação do processamento digital definida em 4.3.1.1 foi aplicada em potenciais de ação ópticos com objetivo de reduzir o ruído e interpolar o registro para melhorar a resolução temporal dos sinais experimentais obtidos por meio de mapeamento óptico. A Figura 23 mostra um ciclo do registro óptico de dois pixels representados na Figura 19 por  $\oplus$  e  $\circ$ , antes e depois do processamento digital por Butterworth de quarta ordem e frequência de corte 88Hz e Spline Fit com resolução temporal final de 0,1ms. Os pixels  $\oplus$  e  $\circ$  foram

escolhidos por apresentarem ciclos com morfologia normal do potencial de ação, os ciclos analisados foram 300 a 500ms e 1200 a 1400ms, respectivamente.

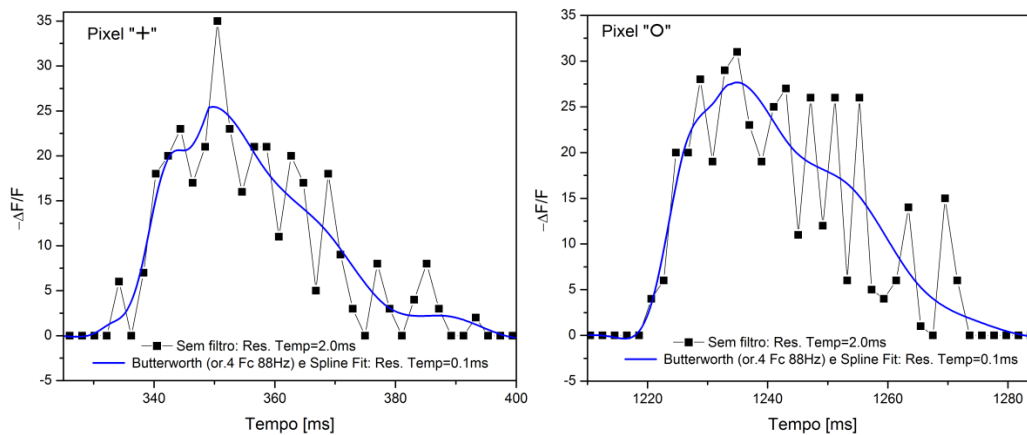


Figura 23: Potencial de ação óptico registrado pelos pixels  $\oplus$  e  $\circ$ , antes e depois do processamento digital por Butterworth e Spline Fit.

Os registros experimentais (OAP) dos pixels  $\oplus$  e  $\circ$  apresentados na Figura 23, submetidos ao processamento digital por Butterworth e Spline Fit, mostram significativa redução do ruído, interpolação para resolução temporal melhor e boa concordância com os dados experimentais pré-processamento.

#### 4.4

#### Análise qualitativa e quantitativa da influência das resoluções espaciais e temporais.

A análise dos dados experimentais e dos efeitos do processamento de sinais foi realizada de forma qualitativa e quantitativa por meio do estudo da propagação da atividade elétrica utilizando o padrão de ativação dos mapas ópticos e do estudo do potencial de ação óptico por meio de parâmetros relacionados com a morfologia do *upstroke*, respectivamente [70].

##### 4.4.1

#### Propagação da Atividade Elétrica

A visualização da propagação da atividade elétrica por meio de mapeamentos ópticos realizados em corações isolados procura identificar os

padrões normais e patológicos da condução do estímulo elétrico no tecido cardíaco. Essa análise pode ser comprometida pela resolução espacial utilizada durante a medição do sinal de fluorescência emitido pelas células cardíacas.

A avaliação da influência da resolução espacial na visualização da propagação da atividade elétrica cardíaca por meio de mapas ópticos foi realizada de forma qualitativa, utilizando-se os mapas ópticos originais e os mapas ópticos obtidos por meio do processo de binagem.

O efeito da diminuição da resolução espacial na identificação dos padrões de propagação da atividade elétrica foi avaliado por meio da comparação de vários quadros sequenciais do mapeamento óptico original (com resolução espacial de 0,4mm) com a mesma sequência de quadros obtidos por meio dos processos de binagem para cada nova resolução espacial (0,8mm; 1,2mm; 1,6mm e 3,2mm).

Para ilustrar essa análise qualitativa, a Figura 24 mostra a comparação de um mapa obtido para um determinado instante quadro, para 4 diferentes resoluções espaciais (0,4mm, 0,8mm, 1,6mm e 3,2mm). Nos mapas foram superpostas indicações dos pixels  $+$  e  $\circ$ , cujos potenciais de ação ópticos processados por binagem são apresentados na Figura 25.

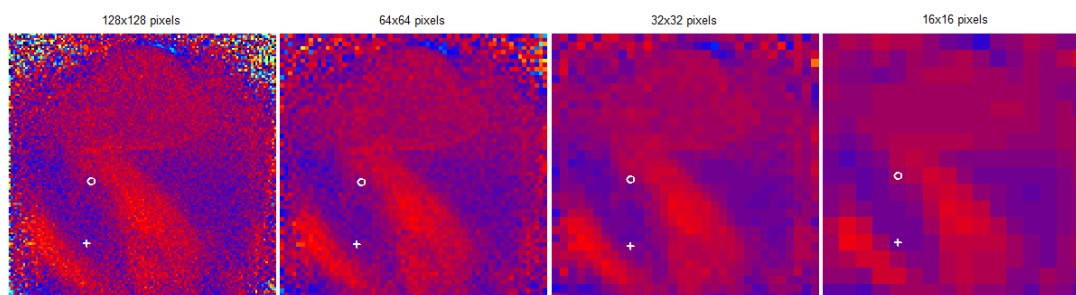


Figura 24: Ativação elétrica do coração isolado de coelho, em determinado instante, para as resoluções espaciais de 0,4mm (128x128 pixels por quadro), 0,8mm (64x64 pixels por quadro), 1,2mm (32x32 pixels por quadro) e 3,2mm (16x16 pixels por quadro).

Os potenciais de ação dos pixels  $+$  e  $\circ$  (indicados na Figura 24), com resoluções espaciais obtidas por meio de binagem de 0,8mm (binagem 2x2), 1,2mm (binagem 3x3), 1,6mm (binagem 4x4) e 3,2mm (binagem 8x8), foram submetidos ao processamento digital por Butterworth e Spline Fit. Estes sinais



experimentais com diferentes resoluções espaciais estão apresentados na Figura 25 para os dois pixels (+ e O) em conjunto com os dados experimentais de cada pixel pré-processamento.

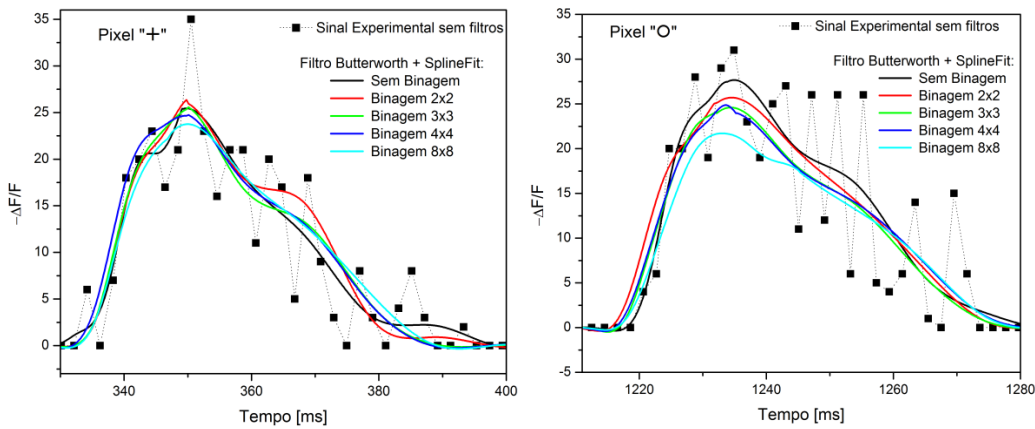


Figura 25: Potenciais de ação ópticos registrado pelos pixels + (esquerda) e O (direita) e processados por binagem para reduzir a resolução espacial em combinações de 2x2, 3x3, 4x4 e 8x8.

A redução da resolução espacial resultou em prejuízos na visualização da propagação da atividade elétrica (Figura 24) e alterações na morfologia de registros do OAP (Figura 25).

A Figura 26 apresenta a sequência de mapas I-Q de 953,4ms (Figura 26 I) a 1024,62ms (Figura 26 Q) com intervalo de 10,18ms entre cada quadro, para as imagens constituídas de 128x128 pixels (sem binagem – resolução espacial 0,4mm); 64x64 pixels (binagem 2x2 – resolução espacial 0,8mm); 32x32 pixels (binagem 4x4 – resolução espacial 1,6mm); e 16x16 pixels (binagem 8x8 – resolução espacial 3,2mm). A sequência de mapas I-Q possui as indicações de 10 pixels por formas geométricas.

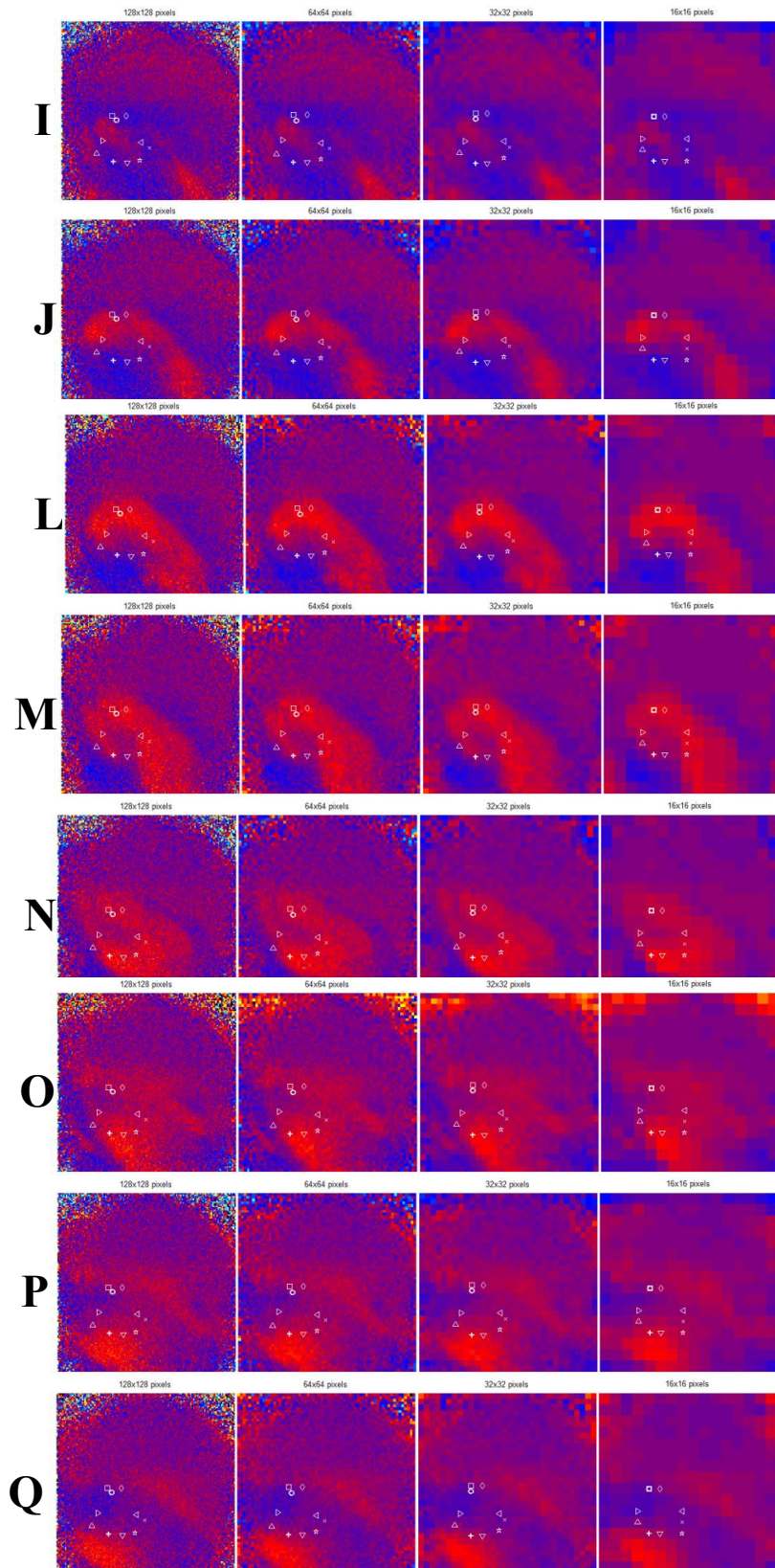


Figura 26: Comparação de uma sequência de frames de 953,4ms (I) a 1024,62ms (Q), com intervalo entre eles de 10,18ms, para mapas ópticos com diferentes resoluções espaciais: 128x128 pixels, 64x64 pixels, 32x32 pixels e 16x16 pixels.

Os mapas apresentados na Figura 26 exibem um padrão de ativação reentrante, circulando em torno de regiões com bloqueio na condução, como mencionado anteriormente na seção 4.2.1. As imagens com resolução espacial de 128x128 pixels permitem a identificação e localização deste bloqueio, porém as imagens com resolução reduzida perdem informação gradualmente resultando em uma dificuldade para alcançar esta conclusão. Nas imagens com resolução espacial de 16x16 pixels, a sequência de mapas de ativação não deixa clara a existência de alguns dos bloqueios de condução existentes, mas a identificação do padrão reentrante da propagação elétrica no tecido não é prejudicada.

A Figura 27 mostra os mapas de ativação elétrica para o instante 967,57ms (entre J e L), com resolução espacial experimental de 0,4mm (128x128 pixels) e resolução espacial obtida pelo processo digital de binagem de 3,2mm (16x16 pixels), com a indicação dos 10 pixels por formas geométricas e de um pixel (#) posicionado sobre uma região de bloqueio, entre as posições do pixel ☆ e os pixels ◁ e ✕.

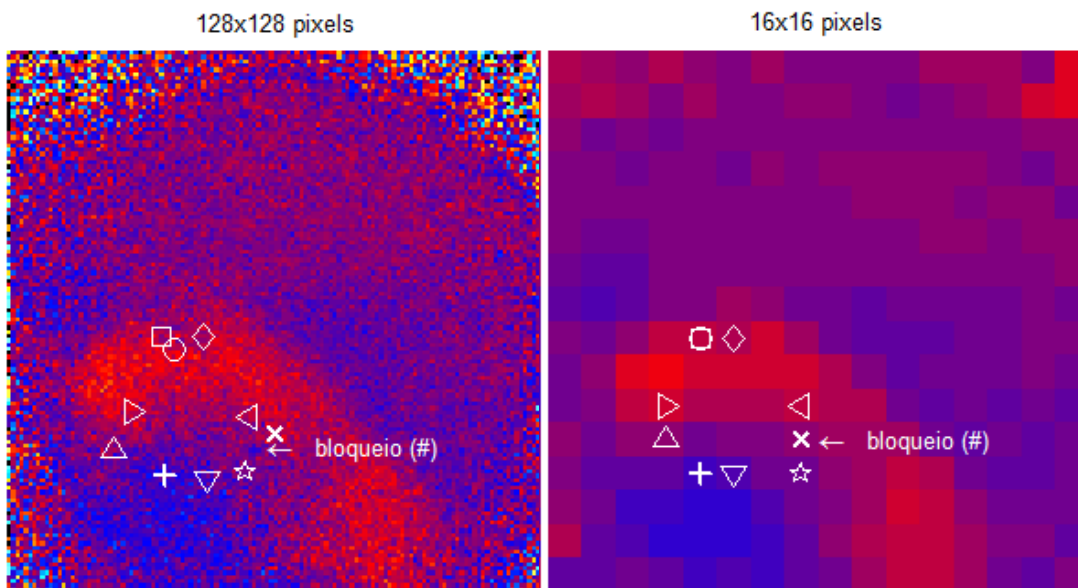


Figura 27: Mapa de ativação no instante 967,57ms (entre os instantes J e L), com resolução espacial de 0,4mm (128x128 pixels) e 3,2mm (16x16 pixels) com indicação da posição do pixel # (seta) onde ocorre um bloqueio visualizado somente no mapa com maior resolução espacial (128x128 pixels).

Este bloqueio impede a condução da atividade elétrica do pixel ✕ para o pixel ☆. Entretanto, no mapa de ativação com resolução espacial de 3,2mm

(Figura 27 16x16 pixels) não é possível identificar a região de bloqueio, sendo que os pixels # e ✕ se superpõem, apresentado o mesmo registro do potencial de ação (Figura 28).

A Figura 28 apresenta os potenciais de ação ópticos dos pixels ☆, ✕ e # (posicionado sobre o bloqueio observado no mapa do instante 967,57ms) para as resoluções espaciais de 0,4mm e 3,2mm, com a indicação dos instantes de A a Q.

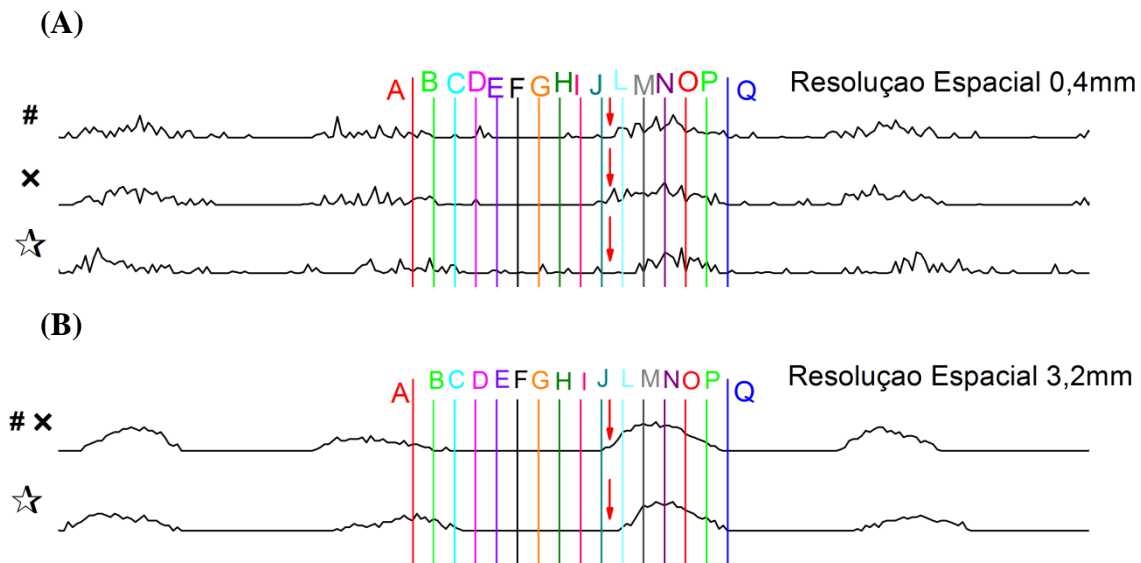


Figura 28: Potenciais de ação dos pixels ✕, # e ☆ para as resoluções espaciais de 0,4mm (A) e 3,2mm (B), com a indicação dos instantes de A a Q. Os pixel ✕ e o pixel B (onde ocorre um bloqueio de condução) são individualmente visualizados somente no registro com maior resolução espacial (0,4mm)

O registro experimental do pixel #, onde, no instante 967,57ms (entre J e L), ocorre um bloqueio de condução da atividade elétrica proveniente do pixel ✕, impedindo a ativação elétrica do pixel ☆, é bem visualizado na Figura 28A (Resolução espacial 0,4mm). Na Figura 28B, com resolução espacial 3,2mm, os registros dos pixels # e ✕ se superpõem (Figura 28B) e o mapa óptico não evidencia a região de bloqueio. Portanto, a menor resolução espacial compromete a visualização de aspectos eletrofisiológicos em mapas da atividade elétrica cardíaca (Figura 24, Figura 26, Figura 27 e Figura 28) e distorce a morfologia do potencial de ação registrado experimentalmente (Figura 25 e Figura 28).

## 4.4.2

### Parâmetros do *upstroke* do potencial de ação

Para realizar uma análise quantitativa dos efeitos da resolução espacial e temporal nos registros experimentais de OAP foram estudados parâmetros relacionados ao *upstroke*, um componente de alta frequência do registro do potencial de ação. A caracterização dos efeitos das resoluções foi realizada utilizando registros gerados por simulação e registros experimentais. Os potenciais de ação simulados foram avaliados por meio dos parâmetros  $T_{S(\max)}$  (instante no qual o *upstroke* do potencial de ação tem sua máxima derivada no tempo),  $V_{S(\max)}$  (valor da tensão no instante no qual o *upstroke* do potencial de ação tem sua máxima derivada no tempo) e  $V_S^*$  (fração do *upstroke* no qual o *upstroke* do potencial de ação tem sua máxima derivada no tempo), descritos na seção 3.4. Os potenciais de ação ópticos foram analisados por meio dos parâmetros  $T_{F(\max)}$  (instante no qual o *upstroke* do potencial de ação tem sua máxima derivada no tempo),  $V_{F(\max)}$  (valor da voltagem no instante no qual o *upstroke* do potencial de ação tem sua máxima derivada no tempo) e  $V_F^*$  (fração do *upstroke* no qual o *upstroke* do potencial de ação tem sua máxima derivada no tempo), também descritos na seção 3.4.

#### 4.4.2.1 Parâmetros do *upstroke* do potencial de ação simulado

Para a análise da influência da resolução espacial foi realizada a comparação dos valores de parâmetros do *upstroke* dos potenciais de ação simulados de uma única célula ( $AP_{\text{cell}}$ ) e do grupo de 125 células ( $AP_{\text{avg}}$ ), ambos com a mesma resolução temporal. Da mesma forma, a análise da influência da resolução temporal foi realizada por meio da comparação dos valores de parâmetros do *upstroke* dos potenciais de ação simulados  $AP_{\text{cell}}$  com diferentes resoluções temporais e comparação dos valores de parâmetros do *upstroke* dos potenciais  $AP_{\text{avg}}$  (125 células) com diferentes resoluções temporais.

Os parâmetros  $T_{S(\max)}$ ,  $V_{S(\max)}$  e  $V_S^*$  foram calculados para potenciais simulados  $AP_{\text{cell}}$  com resolução temporal de 0,1ms, 0,2ms, 0,3ms, 0,4ms, 0,5ms, 1,0ms e 2,0ms e para  $AP_{\text{avg}}$  (125 células) com resolução temporal de 0,1ms, 0,2ms, 0,3ms, 0,4ms, 0,5ms, 1,0ms e 2,0ms. Os parâmetros  $T_{S(\max)}$  foram

calculados em relação ao instante do início do *upstroke*, isto é,  $T_{S(\max)}$  é instante relativo no qual o *upstroke* do potencial de ação tem sua máxima derivada no tempo. Os valores de  $T_{S(\max)}$ ,  $V_{S(\max)}$  e  $V_S^*$  estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Parâmetros  $T_{S(\max)}$ ,  $V_{S(\max)}$  e  $V_S^*$  calculados para potenciais simulados  $AP_{\text{cell}}$  e de um grupo de 125 células,  $AP_{\text{avg}}$ , com resoluções temporais de 0,1ms, 0,2ms, 0,3ms, 0,4ms, 0,5ms, 1,0ms e 2,0ms.

Resolução Temporal	Parâmetros					
	$T_{S(\max)}$ (ms)		$V_{S(\max)}$ (mV)		$V_S^*$	
	<i>Célula Única</i>					
<b>0,1 ms</b>	2,7	(Ref.)	5,27	(Ref.)	<b>0,72</b>	(Ref.)
<b>0,2 ms</b>	2,6	(3,70%)	-23,60	(547,48%)	<b>0,48</b>	(32,59%)
<b>0,3 ms</b>	2,5	(7,41%)	-38,37	(827,53%)	<b>0,36</b>	(49,26%)
<b>0,4 ms</b>	2,4	(11,11%)	-43,92	(932,76%)	<b>0,47</b>	(34,01%)
<b>0,5 ms</b>	2,5	(7,41%)	-38,37	(827,53%)	<b>0,36</b>	(49,25%)
<b>1,0 ms</b>	2,0	(25,93%)	-76,19	(1544,63%)	<b>0,06</b>	(91,92%)
<b>2,0 ms</b>	2,0	(25,93%)	-76,19	(1544,63%)	<b>0,06</b>	(91,92%)
	<i>Média de 125 células</i>					
<b>0,1 ms</b>	3,3	(Ref.)	-39,17	(Ref.)	<b>0,25</b>	(Ref.)
<b>0,2 ms</b>	3,4	(3,03%)	-36,73	(6,23%)	<b>0,27</b>	(10,36%)
<b>0,3 ms</b>	3,3	(0,00%)	-39,17	(0,00%)	<b>0,25</b>	(0,00%)
<b>0,4 ms</b>	3,6	(9,09%)	-32,64	(16,67%)	<b>0,30</b>	(19,31%)
<b>0,5 ms</b>	3,5	(6,06%)	-34,62	(11,62%)	<b>0,30</b>	(19,31%)
<b>1,0 ms</b>	4,0	(21,21%)	-24,95	(36,30%)	<b>0,40</b>	(60,36%)
<b>2,0 ms</b>	4,0	(21,21%)	-24,95	(36,30%)	<b>0,40</b>	(60,36%)

(Ref.) = Valor de referência

Os valores do parâmetro  $T_{S(\max)}$  de potenciais simulados  $AP_{\text{cell}}$ , apresentados na Tabela 1, sofrem uma variação entre as diferentes resoluções temporais, atingindo uma diferença de 0,7ms (25,93%) entre o registro com resolução temporal de 0,1ms (resolução de referência) e o registro com resolução temporal de 1,0 e 2,0ms. Ao comparar os valores do parâmetro  $V_S^*$ , a variação observada é ainda maior, alcançando 91,92% (0,66) na comparação entre a resolução temporal 0,1ms e 1,0ms ou 2,0ms). Os valores do parâmetro  $V_{S(\max)}$  sofrem variações extremas, ultrapassando 1500% entre a resolução temporal de referência (0,1ms) e a resolução de 2,0ms.

No caso de potenciais simulados  $AP_{\text{avg}}$  (125 células), os valores do parâmetro  $T_{S(\max)}$  apresentados na Tabela 1 também sofrem uma pequena variação

entre as diferentes resoluções temporais alcançando 0,7ms (21,21%) entre a resolução temporal de referência (0,1ms) e 1,0ms (ou 2,0ms). Os valores do parâmetro  $V_S^*$ , por sua vez, apresentam variações que atingem 60,37% (0,1497) na comparação entre a resolução temporal 0,1ms e 1,0ms (ou 2,0ms). Os valores do parâmetro  $V_{S(max)}$  sofrem variações que alcançam 36,30% entre a resolução de referência e a resolução de 2,0ms

Portanto, as variações nos valores dos parâmetros  $T_{S(max)}$  em função da resolução temporal, tanto para potenciais simulados  $AP_{cell}$  quanto para  $AP_{avg}$ , são da ordem de 20%. Por outro lado, as variações nos valores dos parâmetros  $V_S$  e  $V_S^*$  de potenciais simulados  $AP_{cell}$  e  $AP_{avg}$  mais elevadas e atingem níveis distintos para as duas diferentes resoluções espaciais simuladas. As variações menos intensas são observadas para o potencial simulado  $AP_{avg}$ , uma vez que esses apresentam *upstrokes* com menor inclinação (Figura 17), isto é, *upstrokes* cujas velocidades de despolarização são menores. As maiores alterações em função da resolução temporal são obtidas para os valores do parâmetro  $V_{S(max)}$  de potenciais simulados  $AP_{cell}$ , atingindo variações que ultrapassam 1500%.

Para a análise dos efeitos da resolução espacial e temporal nos registros ópticos experimentais, gerados pela atividade elétrica cardíaca, utilizando os parâmetros do *upstroke* dos OAPs ( $T_{F(max)}$ ,  $V_{F(max)}$  e  $V_F^*$ ), é necessária uma análise prévia, por simulação, dos efeitos do pré-processamento digital nos valores desses indicadores.

Potenciais  $AP_{avg}$  foram simulados com resoluções temporais de 0,1ms, 0,2ms, 0,3ms, 0,4ms, 0,5ms, 1,0ms e 2,0ms. Os  $AP_{avg}$  com resoluções entre 0,1ms e 1,0ms foram utilizados como referência do estudo. Ao potencial  $AP_{avg}$  simulado com resolução temporal de 2,0ms, foi adicionado ruído branco e aplicados os processamentos digitais por Butterworth (or.4 Fc 88Hz) e Spline Fit para obtenção de  $AP_{avg}$  ruidosos e processados com interpolações para resoluções temporais de 0,1ms, 0,2ms, 0,3ms, 0,4ms, 0,5ms e 1,0ms.

Os parâmetros  $T_{S(max)}$ ,  $V_{S(max)}$  e  $V_S^*$  foram calculados para potenciais  $AP_{avg}$  de referência e para o  $AP_{avg}$  ruidoso e após o processamento, com interpolações para resoluções de 0,1ms a 1,0ms (Tabela 2).

Tabela 2: Parâmetros  $T_{S(max)}$ ,  $V_{S(max)}$  e  $V_S^*$  calculados para potenciais  $AP_{avg}$  de 125 células, simulados com resoluções temporais de 0,1ms a 2,0ms, esse último com adição de ruído e submetido à aplicação dos filtros Butterworth (or.4 Fc 88Hz) e Spline Fit, interpolados para resoluções temporais de 0,1ms a 1,0ms .

<i>Resolução Temporal</i>	<i>Parâmetros</i>					
	$T_{S(max)}$ (ms)		$V_{S(max)}$ (mV)		$V_S^*$	
<i>Média de 125 células com adição de ruído*</i>						
<b>2,0 ms</b>	6,0		04,99		<b>0,61</b>	
<i>Média de 125 células com adição de ruído e após aplicação de Butterworth e Spline Fit**</i>						
<b>0,1 ms</b>	3,7	(Ref.)	-19,66	(Ref.)	<b>0,51</b>	(Ref.)
<b>0,2 ms</b>	3,8	(2,70%)	-18,03	(8,29%)	<b>0,52</b>	(3,07%)
<b>0,3 ms</b>	3,6	(2,70%)	-16,41	(16,53%)	<b>0,54</b>	(6,05%)
<b>0,4 ms</b>	3,6	(2,70%)	-16,18	(17,70%)	<b>0,54</b>	(6,47%)
<b>0,5 ms</b>	3,5	(5,41%)	-22,90	(16,48%)	<b>0,48</b>	(6,07%)
<b>1,0 ms</b>	4,0	(8,11%)	-14,79	(24,77%)	<b>0,55</b>	(9,14%)
* <i>Ruído branco gaussiano</i>						
** <i>Butterworth (or.4 Fc 88Hz) e Spline Fit aplicados no potencial de ação médio do grupo de 125 célula com ruído e com resolução temporal de 2,0ms.</i>						
(Ref.) = Valor de referência						

Na Tabela 2, comparando os resultados dos parâmetros do *upstroke* apresentados pelo  $AP_{avg}$  ruidoso com o mesmo sinal sem a adição de ruído (apresentado na Tabela 1), na mesma resolução temporal, observa-se variação de 50% (2 ms) no parâmetro  $T_{S(max)}$ , 53,31% (0,212) para o parâmetro  $V_S^*$  e 112,74% (44,16mV) para o  $V_{S(max)}$ .

Os valores do parâmetro  $T_{S(max)}$  dos potenciais simulados  $AP_{avg}$ , processados por Butterworth e Spline Fit, apresentam diferenças, quando se compara os diferentes graus de interpolação, sendo que o sinal processado para 1,0ms difere em 8,11% (0,3ms) do sinal interpolado para 0,1ms (Tabela 2). Os valores de  $T_{S(max)}$  dos  $AP_{avg}$  ruidosos e processados são próximos ao valor de referência ( $T_{S(max)}$  do  $AP_{avg}$  ruidoso, sem processamento), e apresentam correção do valor do parâmetro que fora distorcido pela adição do ruído no sinal simulado, já que para interpolações de 0,1ms o  $T_{S(max)}$  (3,7ms) é mais próximo da referência do  $AP_{avg}$  sem ruído (3,3ms), apresentado na Tabela 1, do que para o valor do  $AP_{avg}$  ruidoso (6.0ms) sem processamento (Tabela 2).



Os valores do parâmetro  $V_S^*$  dos  $AP_{avg}$  ruidosos e processados por Butterworth e Spline Fit apresentam diferenças que atingem 9,14% (0,0465) entre as interpolações para resoluções de 0,1ms e 1,0ms. Analisando-se os valores de  $V_S^*$  na Tabela 2 para o  $AP_{avg}$  de 2,0ms de resolução temporal, adicionado de ruído e sem processamento (**0,61**), e para  $AP_{avg}$  ruidoso e com processamento interpolando para 0,1ms (**0,51**); e na Tabela 1 para  $AP_{avg}$  gerado com resolução temporal de 2,0ms (**0,40**) e 0,1 ms (**0,25**); verifica-se que o processamento faz com que o sinal ruidoso ( $V_S^*$  de **0,61**) tenha o parâmetro  $V_S^*$  (**0,51**) aproximado do sinal sem ruído (**0,40**). Os valores do parâmetro  $V_{S(max)}$  dos  $AP_{avg}$  ruidosos e processados por Butterworth e Spline Fit apresentam diferenças que atingem 24,77% entre as interpolações para resoluções de 0,1ms e 1,0ms. Os valores de  $V_{S(max)}$  dos  $AP_{avg}$  ruidosos e processados (-14,79mV para  $AP_{avg}$  de 2,0ms, com ruído, processado para 0,1ms) são mais próximos do sinal original (-24,95 mV para  $AP_{avg}$  com 2,0ms, sem ruído) do que o obtido com original adicionado de ruído (04,99 mV)

#### 4.4.2.2 Parâmetros do upstroke do potencial de ação ótico

Para a avaliação quantitativa da influência da resolução espacial em potenciais de ação óticos (OAP) foram utilizados os registros de dois pixels, indicados nos mapas da Figura 26 por  $\oplus$  e  $\circ$ . Para essa análise foi utilizada a combinação de processamento por Butterworth e Spline Fit obtendo sinais processados com interpolação para a resolução temporal final de 0,1ms.

Os parâmetros do *upstroke* experimental ( $T_{F(max)}$ ,  $V_{F(max)}$  e  $V_F^*$ ) foram calculados para os OAP dos pixels  $\oplus$  e  $\circ$ , processados digitalmente com interpolação para 0,1ms, e submetidos ao processo de binagem para variação da resolução espacial. Foram feitos estudos para a resolução espacial experimental (0,4mm) e para as resoluções espaciais de 0,8mm, 1,2mm, 1,6mm e 3,2mm obtidas pelo processo de binagem.

Para muitos sinais experimentais sem processamento não é possível calcular valores para os parâmetros  $T_{F(max)}$ ,  $V_{F(max)}$  e  $V_F^*$ , pois o ruído contido no registro não permite determinar uma derivada máxima no *upstroke* do OAP. Os parâmetros  $T_{F(max)}$  foram calculados em relação ao instante do início do *upstroke*,

isto é,  $T_{F(\max)}$  é o instante relativo no qual o *upstroke* do potencial de ação tem sua máxima derivada no tempo.

Os valores dos parâmetros  $T_{F(\max)}$ ,  $V_{F(\max)}$  e  $V_{F^*}$  calculados para os potenciais de ação ópticos simultâneos registrados nos pixels  $\oplus$  e  $\circ$ , processados por Butterworth e Spline Fit para resolução temporal de 0,1ms e resoluções espaciais de 0,4mm, 0,8mm, 1,2mm, 1,6mm e 3,2mm, estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Parâmetros  $T_{F(\max)}$ ,  $V_{F(\max)}$  e  $V_{F^*}$  calculados para os OAP dos pixels  $\oplus$  e  $\circ$ , processados por Butterworth e Spline Fit obtendo interpolação para 0,1ms, para resoluções espaciais de 0,4mm, 0,8mm, 1,2mm, 1,6mm e 3,2mm.

<i>Resolução Espacial</i>	<i>Parâmetros</i>					
	$T_{F(\max)}$ (ms)		$V_{F(\max)}$ (mV)		$V_{F^*}$	
	<i>Pixel “+”</i>					
<b>0,4 mm</b>	8,2	(Ref.)	11,67	(Ref.)	<b>0,45</b>	(Ref.)
<b>0,8 mm</b>	7,6	(7,32%)	10,48	(10,22%)	<b>0,40</b>	(10,28%)
<b>1,2 mm</b>	7,5	(8,54%)	10,53	(9,79%)	<b>0,42</b>	(6,13%)
<b>1,6 mm</b>	7,1	(13,41%)	11,54	(1,12%)	<b>0,47</b>	(6,10%)
<b>3,2 mm</b>	7,4	(9,76%)	09,43	(19,17%)	<b>0,40</b>	(9,52%)
	<i>Pixel “o”</i>					
<b>0,4 mm</b>	7,2	(Ref.)	12,84	(Ref.)	<b>0,47</b>	(Ref.)
<b>0,8 mm</b>	4,3	(40,28%)	09,56	(25,55%)	<b>0,38</b>	(18,89%)
<b>1,2 mm</b>	5,5	(23,61%)	09,40	(26,80%)	<b>0,39</b>	(16,13%)
<b>1,6 mm</b>	5,5	(23,61%)	09,83	(23,47%)	<b>0,40</b>	(13,87%)
<b>3,2 mm</b>	6,7	(6,94%)	09,85	(23,32%)	<b>0,46</b>	(2,11%)

*(Ref.) = Valor de referência*

Na Tabela 3, os valores do parâmetro  $T_{F(\max)}$  dos potenciais de ação do pixel  $\oplus$ , processados por Butterworth e Spline Fit, e com resoluções espaciais de 0,8mm, 1,2mm, 1,6mm e 3,2mm obtidas por binagem, apresentam diferenças que alcançam 13,41% (1,1ms) entre o  $T_{F(\max)}$  para resolução espacial experimental de 0,4mm e a resolução de 1,6mm.

Usando a resolução espacial experimental 0,4mm como referência, os valores do parâmetro  $V_{F^*}$  decrescem com a menor resolução espacial, atingindo diferença máxima de 10,28% (0,05) para a resolução 0,8mm. Os valores do

parâmetro  $V_{F(\max)}$  apresentaram as maiores diferenças com relação à resolução experimental de referência (0,4mm), atingindo 19,17% para a resolução de 3,2mm.

Na Tabela 3, os valores do parâmetro  $T_{F(\max)}$  dos potenciais de ação do pixel  $\bigcirc$ , processados por Butterworth e Spline Fit com resoluções espaciais de 0,8mm, 1,2mm, 1,6mm e 3,2mm obtidas por binagem, apresentam diferenças que alcançam 40,28% (2,9ms) entre o  $T_{F(\max)}$  para resolução espacial experimental de 0,4mm e a resolução de 0,8mm.

Usando a resolução espacial experimental 0,4mm como referência, os valores do parâmetro  $V_F^*$ , a variação ocorrida aumenta levemente alcançando o máximo de 18,89% (0,09) para a resolução 0,8mm. Os valores do parâmetro  $V_{F(\max)}$  apresentam diferenças um pouco maiores que  $V_F^*$  sofrendo variações de 26,80% entre a resolução de referência (0,4mm) e 1,2mm.

As variações observadas nos valores dos parâmetros  $T_{F(\max)}$  de OAP experimentais para os pixels  $\oplus$  e  $\bigcirc$ , com diferentes resoluções espaciais, são um pouco mais elevadas que as variações nos valores dos parâmetros  $V_F^*$  de OAP para os pixels e não apresentam uma variação sistemática com a redução da resolução espacial.

Com base na análise da influência da resolução espacial, a avaliação de forma quantitativa da influência do processamento digital utilizado para melhorar a resolução temporal em potenciais de ação ópticos foi realizada utilizando os registros dos pixels  $\oplus$  e  $\bigcirc$ , com resolução espacial de 0,4mm. Para essa análise aplicou-se a combinação de Butterworth e Spline Fit obtendo sinais experimentais processados com interpolação para resolução temporal final de 0,1ms, 0,2ms, 0,3ms, 0,4ms, 0,5ms e 1,0ms (Tabela 4).

Na Tabela 4, os sinais com resolução espacial de 0,4mm e processados com interpolação para resolução temporal de 0,1ms foram usados como referência para o estudo das variações dos parâmetros  $T_{F(\max)}$ ,  $V_{F(\max)}$  e  $V_F^*$  para as diferentes resoluções temporais obtidas pela interpolação do processamento digital por Spline Fit.

Tabela 4: Parâmetros  $T_{F(\max)}$ ,  $V_{F(\max)}$  e  $V_{F^*}$  calculados para os OAP dos pixels  $\oplus$  e  $\circ$ , com resolução espacial de 0,4mm e processados por Butterworth e Spline Fit obtendo resoluções temporais de 0,1ms, 0,2ms, 0,3ms, 0,4ms, 0,5ms e 1,0ms.

<i>Resolução Temporal</i>	<i>Parâmetros</i>					
	$T_{F(\max)}$ (ms)		$V_{F(\max)}$ (mV)		$V_{F^*}$	
<i>Pixel “+”</i>						
<b>0,1 ms</b>	8,2	(Ref.)	11,672	(Ref.)	<b>0,45</b>	(Ref.)
<b>0,2 ms</b>	8,2	(0,00%)	11,672	(0,00%)	<b>0,45</b>	(0,00%)
<b>0,3 ms</b>	8,1	(1,22%)	11,335	(2,89%)	<b>0,43</b>	(3,03%)
<b>0,4 ms</b>	8,2	(0,00%)	11,672	(0,00%)	<b>0,43</b>	(2,60%)
<b>0,5 ms</b>	8,0	(2,44%)	10,999	(5,77%)	<b>0,42</b>	(6,06%)
<b>1,0 ms</b>	8,0	(2,44%)	10,999	(5,77%)	<b>0,42</b>	(6,01%)
<i>Pixel “O”</i>						
<b>0,1 ms</b>	7,2	(Ref.)	12,843	(Ref.)	<b>0,47</b>	(Ref.)
<b>0,2 ms</b>	7,2	(0,00%)	12,843	(0,00%)	<b>0,47</b>	(0,15%)
<b>0,3 ms</b>	7,0	(2,78%)	12,139	(5,48%)	<b>0,44</b>	(5,23%)
<b>0,4 ms</b>	7,2	(0,00%)	12,843	(0,00%)	<b>0,44</b>	(5,21%)
<b>0,5 ms</b>	7,1	(1,39%)	12,491	(2,74%)	<b>0,46</b>	(2,53%)
<b>1,0 ms</b>	6,6	(8,33%)	10,740	(16,37%)	<b>0,39</b>	(16,15%)

*(Ref.) = Valor de referência*

Os valores do parâmetro  $T_{F(\max)}$  dos OAP do pixel  $\oplus$ , processados por Butterworth e Spline Fit obtendo interpolações para resoluções temporais de 0,1ms 0,2ms, 0,3ms, 0,4ms, 0,5ms e 1,0ms, apresentam variações máximas menores em relação à referência de 0,1ms de resolução por processamento (2,44%) do que as observadas nos OAP do pixel  $\circ$  (8,33%). Da mesma forma, os valores de  $T_{F(\max)}$  dos OAP de ambos os pixels  $\oplus$  e  $\circ$  apresentam variações inferiores às observadas para os outros parâmetros ( $V_{F^*}$  e  $V_{F(\max)}$ ).

Os valores do parâmetro  $V_{F^*}$  apresentam diferença máxima de 6,06% (0,027) com relação à referência de 0,1ms no pixel  $\oplus$ . Os valores do parâmetro  $V_{F(\max)}$  apresentam diferenças similares, apresentando diferença máxima de 5,77% para as resoluções de 0,5ms e 1,0ms, em relação à referência.

Os valores do parâmetro  $V_{F^*}$  para o pixel  $\circ$  apresentam diferença máxima de 16,15% (0,08) em relação à referência de 0,1ms, para a resolução 1,0ms. Os

valores do parâmetro  $V_{F(\max)}$  apresentam diferenças similares, com variação máxima de 16,37% para a resolução de 1,0ms.

Portanto, as variações nos valores dos parâmetros  $T_{F(\max)}$  de potenciais de ação experimentais para os pixels  $\oplus$  e  $\ominus$  com diferentes resoluções temporais são menores que 10%. Por outro lado, as variações nos valores dos parâmetros  $V_{F(\max)}$  e  $V_F^*$  de OAP experimentais para os pixels  $\oplus$  e  $\ominus$  são mais elevadas. Todos os três parâmetros do *upstroke* apresentaram variações mais intensas no pixel  $\ominus$  do que no pixel  $\oplus$ .