

BIOQUÍMICA DA ISQUÉMIA

I – FORNECIMENTO E CONSUMO DE OXIGÉNIO PELOS TECIDOS EM GERAL

*João A. Martins e Silva**

Introdução

O oxigénio é um substracto essencial em inúmeras reacções das vias metabólicas. Em condições fisiológicas, os tecidos corporais recebem oxigénio em quantidades adequadas às diversas funções que lhes são subjacentes.

Face a uma deplecção de oxigénio, aquelas vias metabólicas deixam de actuar normalmente, conduzindo a anomalias funcionais com incidência em todo o organismo.

Todavia, a quantidade de oxigénio fornecido aos tecidos não é a única variável que condiciona o metabolismo oxidativo; o fornecimento pode ser normal e, no entanto, haver alterações profundas na utilização de oxigénio, com reflexos nocivos no metabolismo. Assim, o fornecimento e também a utilização do oxigénio molecular podem afectar substancialmente o metabolismo celular e, por consequência, as funções corporais. Nesta ordem de ideias poderá admitir-se que algumas situações patológicas derivem, em última instância, de anomalias no fornecimento e/ou utilização do oxigénio, conducentes, em casos extremos, à morte do indivíduo (1).

* Professor Catedrático e Regente da disciplina de Bioquímica da Faculdade de Medicina de Lisboa.

As alterações da oxigenação tecidual são tradicionalmente enquadradas em quatro estados: *isquémia*, *hipóxia*, *anóxia* e *disóxia*. Enquanto os termos isquémia, hipóxia e anóxia definem situações caracterizadas, em comum, por deficiência ou ausência da oxigenação tecidual, a disóxia representa a utilização anormal de oxigénio, independentemente das quantidades (elevadas, normais ou baixas) fornecidas ou presentes nos tecidos.

Relativamente aos estados de privação de oxigénio, é possível estabelecer dois sub-grupos, com base nas condições de perfusão coexistentes. A perfusão pode ser adequada e, no entanto, a disponibilidade de oxigénio para os tecidos ser limitada pela diminuição ou redução a zero da pressão de oxigénio no sangue, ocasionando, respectivamente, hipóxia ou anóxia. Por sua vez, o sangue pode apresentar pressões elevadas de oxigénio mas o fluxo de perfusão ser restringido a dado nível, induzindo a isquémia; aqui, a exspoliação do oxigénio tecidual associa-se a uma limitação no fornecimento dos nutrientes indispensáveis aos tecidos (tais como a glicose, ácidos gordos, etc.) e a uma remoção deficiente dos metabolitos (2,4). Por consequência, além das diferenças nas condições de perfusão, a isquémia distingue-se da hipóxia e anóxia através de particularidades metabólicas cruciais, a salientar a propósito da isquémia do miocárdio (parte II).

Transporte e distribuição do oxigénio

O desenvolvimento do sistema circulatório e de moléculas transportadoras de oxigénio constituíram etapas evolutivas de maior importância para os vertebrados. O sistema circulatório veio possibilitar o transporte de oxigénio a todos os sectores corporais, a distâncias relativamente consideráveis da fonte exterior; por seu lado, a união do oxigénio a moléculas especiais, veiculadas através do sistema circulatório, permitiu ultrapassar as limitações impostas pela reduzida solubilidade do oxigénio na água.

Virtualmente todo o oxigénio captado ao nível dos pulmões é transportado para os tecidos periféricos em associação estreita com a hemoglobina. A presença de hemoglobina nos glóbulos vermelhos aumenta significativamente a capacidade de transporte de oxigénio pelo sangue: o volume máximo de oxigénio combinado à hemoglobina é, por litro de sangue, cerca de 70 vezes superior à quantidade de oxigénio dissolvido no plasma e eritrocitos (5).

Sistema de transporte do oxigénio

A quantidade de oxigénio transportado para os tecidos não depende apenas da hemoglobina, mas pressupõe a existência de um sistema de transporte complexo, que envolve órgãos diversos com mecanismos reguladores próprios, designadamente os pulmões, sistema cardiovascular e sangue. Poderá dizer-se que *o sistema de transporte de oxigénio* inclui quatro variáveis essenciais: trocas gasosas pulmonares, fluxo sanguíneo, concentração de hemoglobina e afinidade da hemoglobina para o oxigénio (6,7).

No indivíduo normal, a actuação daqueles componentes ajusta-se às necessidades metabólicas corporais, ao manter a tensão de oxigénio a nível adequado nas extremidades distais dos capilares.

Para tal é indispensável que o sistema de transporte de oxigénio se assuma como um conjunto dotado de grande reserva funcional, apto a responder prontamente a variação bruscas nas exigências em oxigénio. Cada um dos constituintes desse sistema dispõe de mecanismos distintos de adaptação; em caso de doença específica dos pulmões, do sistema cardiovascular ou sangue poderá não haver alterações relevantes da oxigenação corporal, devido à intervenção compensadora dos restantes constituintes do sistema de transporte de oxigénio (6).

Fornecimento de oxigénio

A quantidade de oxigénio transportado em cada minuto dos pulmões ao resto do organismo depende do *débito cardíaco* e do *conteúdo em oxigénio* do sangue arterial; por sua vez, esta variável é afectada pela concentração de hemoglobina e capacidade de oxigenação pulmonar do sangue (5,8). O oxigénio combina-se à hemoglobina de forma rápida, reversível, auto-catalítica e não linear, na proporção de uma molécula de O_2 por cada grupo heme da hemoglobina (8). Nestas condições, o poder *oxifórico da hemoglobina* (volume de O_2 que se fixa a 1g de Hb) é de 1,38 mL O_2 ; em consequência, o volume máximo de oxigénio combinado à hemoglobina será igual ao produto da concentração da hemoglobina pelo seu poder oxifórico. Para uma concentração normal média de 15 gHb/100 mL de sangue, esse volume (ou *capacidade máxima de transporte de oxigénio*) atinge 20,7 ml O_2 /100 mL de sangue.

No sangue arterial dos indivíduos normais, virtualmente toda a hemoglobina encontra-se saturada com oxigénio, pelo que a capacidade máxima de transporte equivale ao conteúdo do sangue em oxigénio; caso contrário, se a saturação (SO_2) do sangue for inferior a 100%, o seu conteúdo em oxigénio torna-se mais baixo, sendo calculado pela seguinte relação:

$$\text{conteúdo de } O_2 = \text{capacidade máxima de } O_2 \times SO_2$$

Por exemplo, para uma saturação arterial com oxigénio de 95% o conteúdo em oxigénio será de 19,7 ml O_2 /100 mL de sangue.

No indivíduo normal em repouso, com 5 L/min de débito cardíaco (\dot{Q}) e 20 mL O_2 /100 mL de conteúdo de oxigénio (C_aO_2), a quantidade máxima de oxigénio transportada aos tecidos (\dot{V}_aO_2) perfaz, aproximadamente, 1 litro/min ($\dot{V}_aO_2 = \dot{Q} \times C_aO_2$). Desta quantidade, apenas cerca de 250 mL O_2 /min são recebidos pelos tecidos, na dependência das exigências metabólicas e da velocidade de difusão das moléculas de oxigénio, do sangue para os tecidos envolventes.

Sendo, em repouso, o volume de oxigénio fornecido aos tecidos apenas um quarto do total, conclui-se que o sangue venoso misturado, que refluí da periferia aos pulmões, continua saturado com oxigénio em cerca de 75%.

As necessidades teciduais em oxigénio aumentam substancialmente com o exercício, o que é compensado, sobretudo, pelo aumento do débito cardíaco e pela quantidade de oxigénio extraído do sangue pelos tecidos (5,7).

Distribuição do fluxo sanguíneo

O fornecimento de oxigénio é afectado por variações do débito cardíaco e pela redistribuição do fluxo sanguíneo. O débito cardíaco é primariamente determinado pela actividade metabólica (9,12) e, em plano acessório, pela volémia e viscosidade sanguínea (13,15). O débito cardíaco pode ainda ser afectado por outros mecanismos neuro-hormonais, com acção directa no coração (9).

O aumento do metabolismo local, ao reduzir a resistência arteriolar no sector, favorece o desvio do fluxo sanguíneo para a região; a elevação resultante do retorno venoso aumenta o débito cardíaco.

Embora a resistência arteriolar regional possa ser regulada por mecanismos neurogénicos (10,16), a sua dependência da actividade metabólica

é atribuída a restrições do oxigénio local (17,18) e/ou metabolitos que, como a adenosina, evidenciam acção vasodilatadora, em resposta à hipóxia (19,20).

O débito cardíaco varia a par do volume sanguíneo, possivelmente em função do retorno venoso. Caso a volémia permaneça constante e a viscosidade seja alterada por variações do hematócrito, observam-se modificações recíprocas do débito cardíaco (13,14). As alterações do débito cardíaco na dependência da viscosidade e volémia podem ser normalizadas através de modificações da resistência periférica (14). A redistribuição do fluxo sanguíneo afigura-se indispensável, não só para equilibrar o fornecimento de oxigénio com as exigências metabólicas mas ainda para outras funções, próprias de cada tecido. Assim, enquanto o fluxo coronário espelha a actividade metabólica do miocárdio (3,21), o da pele parece depender de centros térmicos do tronco cerebral, influentes no controlo da temperatura corporal (22).

Todavia, quando sobrevêm restrições no fornecimento de oxigénio (por exemplo, em situação de colapso circulatório), assiste-se ao desvio do fluxo sanguíneo dos tecidos com baixa extracção de oxigénio (como a pele) para os tecidos em que a extracção de oxigénio é elevada (por exemplo, o miocárdio) (6). Em parte, este tipo de mecanismos, que ajustam o fornecimento de oxigénio às exigências metabólicas, tem por base a existência de controlos distintos em tecidos diferentes (11,12); os sectores circulatórios com fluxo sanguíneo relativamente elevado e baixa extracção de oxigénio como que representam uma reserva de oxigénio a que os órgãos mais sensíveis recorrem, em períodos de privação.

Na generalidade, a resposta funcional vascular e a distribuição sanguínea regional são coordenadas pelas necessidades metabólicas teciduais, eventualmente determinantes da variação contínua da resistência arteriolar, relativa a todo o organismo.

O aumento do fluxo sanguíneo local eleva a quantidade de oxigénio transportado à região por minuto e, paralelamente, acentua a densidade da rede capilar (18,23,24); estes efeitos, ao encurtarem a distância média entre o sangue capilar e as células do tecido envolvente, traduzem-se num reforço da oxigenação local (18).

Difusão de oxigénio do sangue para os tecidos

A descarga de oxigénio do sangue para os tecidos é particularmente condicionada pela difusão, fenómeno passivo expressível pela seguinte equação:

$$\dot{V}O_2 / dt = D (PO_2 \text{ capilar} - PO_2 \text{ mitocondrial})$$

Em dado instante (dt), a quantidade de oxigénio ($\dot{V}O_2$) que difunde para o tecido depende do coeficiente de difusão (D; determinado pelas características físicas do oxigénio e particularidades geométricas do sistema em que ocorre a difusão – área superficial e espessura) e da diferença entre a pressão de oxigénio no sangue capilar e mitocondrias (8). Se a pressão de O_2 mitocondrial for considerada constante (cerca de 1 mmHg), a descarga de oxigénio passa a depender de uma única variável, que é a pressão de O_2 no sangue capilar. Este parâmetro é determinado pelo conteúdo do sangue em oxigénio (em qualquer ponto ao longo do capilar) e pela posição da *curva de dissociação da oxiemoglobina* (expressa pelo valor da P50) (6,8,25,26).

À medida que o sangue flui da extremidade arterial para a extremidade venosa de cada capilar, diminui o seu conteúdo (e pressão) no oxigénio; não havendo alterações de difusão e sendo as exigências teciduais equivalentes em todos os sectores que marginam cada capilar, à redução linear do conteúdo do sangue em oxigénio contrapõe-se uma diminuição curvilínea da pressão, em função do comprimento do capilar (Fig. 1).

A posição da curva de dissociação da oxiemoglobina indica o grau de afinidade da hemoglobina para o oxigénio. Em termos práticos poderá dizer-se que a afinidade da hemoglobina para o oxigénio, no contexto da distribuição do fluxo sanguíneo, expressa a fracção de oxigénio disponível no conteúdo do sangue em oxigénio. Quando a P50 é elevada (indicando que a afinidade da hemoglobina para o oxigénio diminui), aumenta a quantidade disponível para os tecidos. Verifica-se o inverso a P50 inferior ao normal (6,25).

A importância fisiológica da curva de dissociação relaciona-se com a sua forma sigmoidal (Fig. 2), resultante dos efeitos cooperativos das moléculas de hemoglobina pela fixação ou dissociação das moléculas de oxigénio (27). Na sua vertente (quase) horizontal são possibilitadas variações significativas da PO_2 (entre 50 a 100 mmHg), a par de uma saturação da hemoglobina com oxigénio igual ou superior a 90%; isto significa que a oxigenação da hemoglobina pode decorrer em boas condições, assegurando níveis elevados e

BIOQUÍMICA DA ISQUÉMIA - I
 FORNECIMENTO E CONSUMO DE OXIGÉNIO PELOS TECIDOS EM GERAL

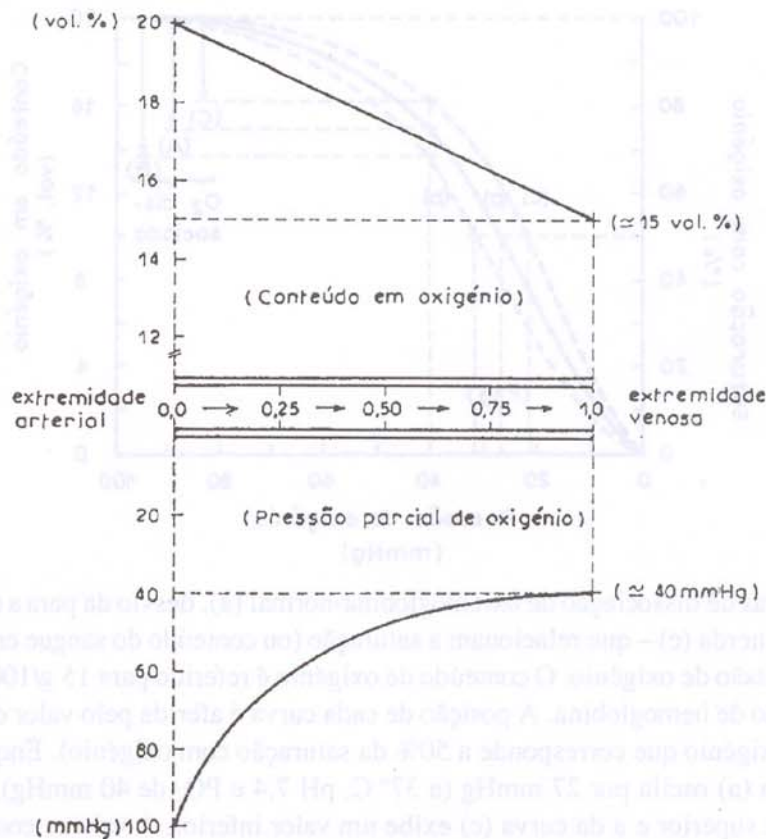


Fig. 1 - Relação entre o conteúdo e pressão parcial de oxigénio no sangue (com concentração de hemoglobina de 15 g/100 mL) que perfunde um dado capilar, em condições normais. Em contraste com a diminuição gradual e linear do conteúdo de oxigénio ao longo do trajecto capilar (as necessidades teciduais não variam do princípio ao fim), a pressão do oxigénio do sangue intracapilar diminui segundo uma curva, em função de comprimento do microvaso.

constantes do conteúdo do sangue arterial em oxigénio, mesmo em casos de hipóxia ou flutuações substanciais da PO_2 alveolar. Pelo contrário, o segmento em declive da curva reflecte variações bruscas na descarga de oxigénio, com alterações mínimas da PO_2 dos capilares periféricos; em condições normais, são dissociadas da hemoglobina grandes quantidades de oxigénio, sob pressão elevada (> 40 mmHg no sangue venoso misturado, P_vO_2); abaixo de 40 mmHg de P_aO_2 atinge-se o *limiar crítico* na descarga de oxigénio, com P_vO_2 de 20 a 25 mmHg. Qualquer alteração na posição da curva de dissociação da oxiemoglobina afecta significativamente a quantidade de oxigénio disponível para os tecidos, sem quase interferir na oxigenação pulmonar da hemoglobina (6). Diversos moduladores (fisiológicos ou exógenos) podem

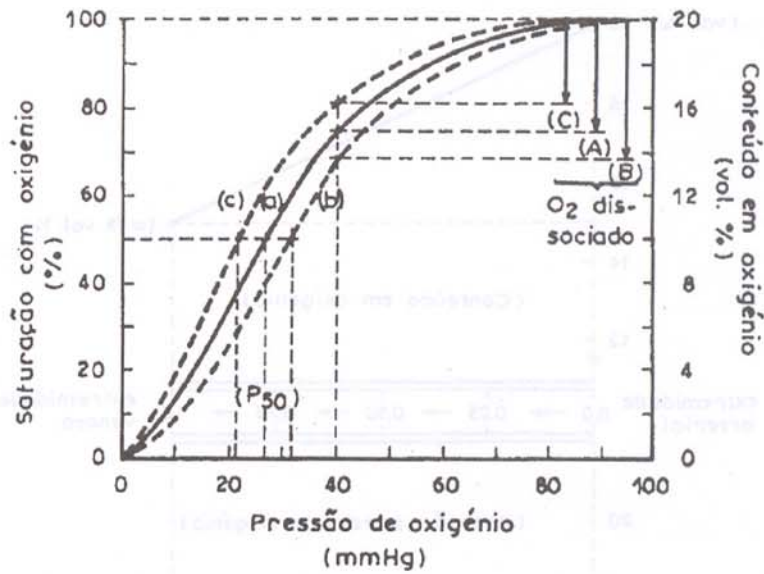


Fig. 2 – Curvas de dissociação de oxiemoglobina-normal (a), desvio da para a direita (b) e para a esquerda (c) – que relacionam a saturação (ou conteúdo do sangue em oxigênio) com a pressão de oxigênio. O conteúdo de oxigênio é referido para 15 g/100 mL de concentração de hemoglobina. A posição de cada curva é aferida pelo valor da P50 (pressão do oxigênio que corresponde a 50% da saturação com oxigênio). Enquanto a P50 da curva (a) oscila por 27 mmHg (a 37° C, pH 7,4 e PO₂ de 40 mmHg), a da curva (b) é-lhe superior e a da curva (c) exibe um valor inferior. A valores constantes de PO₂ no sangue venoso misturado (ou das extremidades venosas dos capilares, – 40 mmHg), verifica-se que um desvio para a direita diminui a SO₂ e, conseqüentemente, aumenta a diferença arteriovenosa (na saturação ou conteúdo; distância B); pelo contrário, a um desvio para a esquerda associa-se uma SO₂ capilar mais elevada e menor diferença arteriovenosa (distância C), em relação ao normal (distância A). A PO₂ capilar constante, a posição da curva de dissociação da oxiemoglobina influencia a extracção do oxigênio, do sangue para os tecidos. Por sua vez, para o mesmo nível da SO₂ no sangue capilar, um desvio para a direita assegura diferenças arteriovenosas idênticas ao normal, a PO₂ mais elevada; no caso do desvio para a esquerda, seria necessário que a PO₂ diminuí-se para o limiar crítico da oxigenação, para assegurar idêntica diferença arteriovenosa.

influenciar a afinidade de hemoglobina para o oxigênio e, conseqüentemente, a oxigenação tecidual (28,29).

A importância da posição da curva de dissociação na descarga de oxigênio é a de manter níveis elevados da P_aO₂ ao longo do trajecto intracapilar. Neste percurso, a quantidade de oxigênio que difunde do sangue para os tecidos é proporcional à diferença do conteúdo de oxigênio entre ambos os sectores, ou, mais propriamente, à pressão de oxigênio intracapilar (8,25). Ao nível da extremi-

dade venosa, a pressão (e conteúdo) de oxigénio no sangue de perfusão são substancialmente inferiores aos da extremidade arterial. Todavia, mesmo na extremidade venosa, torna-se indispensável uma pressão suficientemente elevada (em média superior a 20-25 mmHg), correspondente a um débito adequado, para que o oxigénio possa difundir do sangue para o citoplasma e mitocôndrias celulares, no escasso intervalo de permanência do sangue nos capilares sistémicos (30-32). Quando a P_{vO_2} se torna inferior a 20-25 mmHg, a utilização tecidual de oxigénio torna-se difícil (excepto em situações de ralentamento circulatório) e instala-se a hipóxia.

Os valores da P_{vO_2} em equilíbrio com os tecidos intersticiais, reflectem a oxigenação tecidual; variando em repouso entre 40-45 mmHg para todo o organismo (por medição no sangue venoso misturado da artéria pulmonar), aquela grandeza está contudo dependente do consumo de oxigénio (actividade metabólica) e do tecido em causa. No exercício ou em situações de anóxia, a P_{vO_2} pode descer para 15-20 mmHg, exibindo em repouso valores tão díspares como 25 mmHg no coração ou 60 mmHg no rim ou pele (5).

A análise da difusão do oxigénio na microcirculação periférica é dificultada por diversos factores, com destaque para a densidade e disposição da rede capilar (variáveis de tecido para tecido), número de capilares abertos à perfusão em cada instante e carência de métodos precisos para a medição da PO_2 capilar e tecidual (18). Em consequência, grande parte do que se sabe sobre este assunto deriva de estudos teóricos, baseados essencialmente no modelo de Krogh (33); neste modelo, cada capilar «cilíndrico» seria envolvido por tecido, no qual o oxigénio difundiria radialmente; a área tecidual oxigenada corresponderia também a um cilindro simétrico, ocupado no seu eixo longitudinal pelo capilar respectivo (Fig. 3a).

Diversas razões impedem a aceitação daquele modelo sem reservas: a diminuição da PO_2 ao longo do capilar não é considerada e, ao contrário do que Krogh admitia, os capilares não se dispõem em paralelo nem têm comprimentos idênticos. Embora os conhecimentos actuais ainda sejam limitados, parece que a densidade e superfície dos capilares são muito variáveis de tecido para tecido. Por outro lado, os capilares só raramente se dispõem em redes paralelas; anastomosando-se ao acaso, são perfundidos em todos os sentidos pelo fluxo sanguíneo, com pressões diferentes de oxigénio.

Em termos gerais, poderá considerar-se que a rede capilar, bastante assimétrica é, constituída por microvasos de comprimento variável, perfundidos

em contra-corrente (30,32). Tendo em conta que a PO_2 diminui ao longo dos capilares (de valores elevados na extremidade arterial para valores baixos na extremidade venosa), poderá admitir-se que a área tecidual oxigenada a partir de cada capilar tem a configuração de um cone truncado. Considerando que a perfusão sanguínea ocorre num determinado sector tecidual em regime de contra-corrente, a sua oxigenação processar-se-ia, esquematicamente, como uma justaposição de cones truncados, cada um perfundido pelo seu capilar (Fig. 3b). Esta disposição tende a otimizar a distribuição do oxigénio e, acessoriamente, a permitir a sua extracção máxima possível em caso de necessidade (34).

Em consequência, devido às desigualdades locais de oxigenação (existência de um gradiente longitudinal de PO_2 entre as extremidades arteriais e venosas e dispositivo em contra-corrente), os valores da P_vO_2 reflectem imperfeitamente a oxigenação tecidual, em que valores normais podem estar associados a situações graves de hipóxia local (5).

No caso de uma área tecidual limitada, constituída por dois cones truncados justapostos e perfundidos em contra-corrente, poderá admitir-se a existência de uma área teórica de hipóxia, interposta aos dois cones (Fig. 3). Esse sector tende a alargar-se quando diminui a PO_2 no campo da perfusão, aumenta a

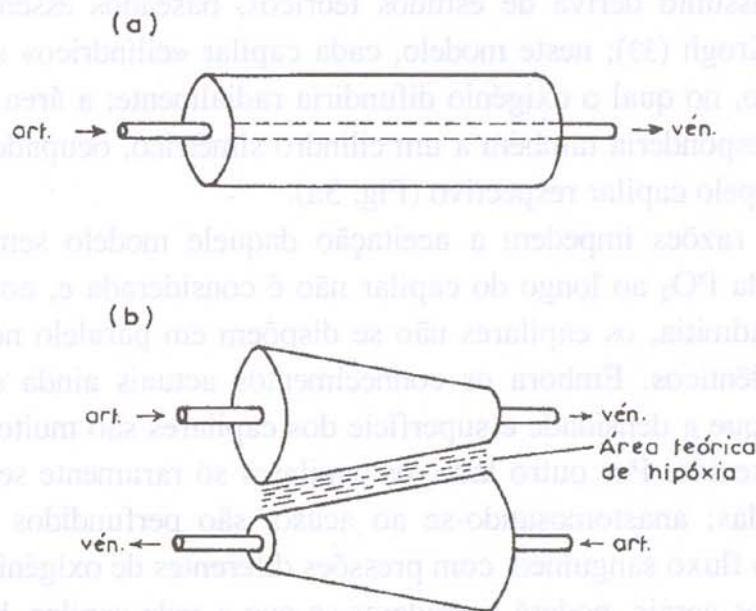


Fig. 3 – Modelos de oxigenação tecidual, cilíndrico (a) e em cone truncado (b).

distância intercapilar ou o consumo de oxigénio e, eventualmente, quando a afinidade de hemoglobina para o oxigénio é superior ao normal (26,32).

A importância potencial da afinidade da hemoglobina para o oxigénio poderá ser apreciada com o *modelo de oxigenação tecidual em cone truncado*. À medida que o sangue percorre o capilar, perde oxigénio para as células envolventes, em proporção determinada pelo metabolismo tecidual. Se a actividade metabólica for constante ao longo de cada capilar, o conteúdo e saturação do sangue em oxigénio diminuem linearmente até à extremidade venosa. A este nível, a PO_2 atinge um nível inadequado à manutenção da difusão de oxigénio para os tecidos, a menos que a P_{50} aumente (Fig. 2); pelo contrário, um desvio da curva de dissociação para a esquerda diminui a dessaturação da oxiemoglobina e, por consequência, a oxigenação tecidual aos mesmos valores de PO_2 ; neste caso, para que os tecidos continuassem a receber quantidades suficientes de oxigénio, seria necessário que a PO_2 fosse inferior aos valores médios normais de P_vO_2 .

Oxigenação tecidual

Consumo tecidual de oxigénio

Em termos globais, a *quantidade de oxigénio consumido pelos tecidos em cada minuto* ($\dot{V}O_2$) é explicitada pela diferença entre os débitos arteriais (\dot{V}_aO_2) e venosos (\dot{V}_vO_2) de oxigénio, ou seja, pela diferença arterio-venosa (ΔAV), através de equação de Fick (5,8):

$$\dot{V}O_2 = \dot{V}_aO_2 - \dot{V}_vO_2$$

O *débito arterial de oxigénio*, que representa o quantidade de oxigénio transportado por minuto, equivale ao produto do débito cardíaco (\dot{Q}) pelo conteúdo arterial em oxigénio (C_aO_2), donde:

$$\dot{V}_aO_2 = \dot{Q} \times C_aO_2$$

em que C_aO_2 representa o produto da concentração de hemoglobina (Hb) pelo seu poder oxifórico (PO) e saturação arterial com oxigénio:

$$C_aO_2 = Hb \times PO \times S_aO_2$$

O *débito venoso do oxigénio* indica a quantidade de oxigénio que, não sendo consumida pelos tecidos, permanece em circulação ($\dot{V}_{vO_2} = \dot{Q} \times C_{vO_2}$). Em consequência, a equação de Fick pode assumir uma expressão diferente, que faz depender o consumo de oxigénio do fluxo cardíaco e da diferença arterio-venosa do conteúdo em oxigénio:

$$\dot{V}O_2 = \dot{Q} (C_aO_2 - C_vO_2) \text{ ou } \dot{V}O_2 = \dot{Q} \times \Delta AV$$

Esta equação, que se aplica à circulação em geral ou a sectores localizados (Fig 4), indica que para dada actividade metabólica existe uma variação recíproca (hiperbólica) do débito cardíaco e diferença arterio-venosa de oxigénio. Em repouso, o consumo tecidual de oxigénio oscila por 250 mL/min. Durante o exercício as necessidades do oxigénio, que chegam a atingir vinte vezes o valor basal (5L/min), são compensados pelo aumento do débito cardíaco e da diferença arterio-venosa, o par do reforço da ventilação pulmonar (5).

Pela relação:

$$\dot{V}_aO_2 = \dot{Q} \times C_aO_2 = \dot{Q} \times Hb \times PO \times S_aO_2$$

poderá concluir-se que a redução de qualquer um dos quatro factores que definem o débito arterial de oxigénio (débito cardíaco, concentração de hemoglobina, poder oxifórico e/ou saturação pelo oxigénio), são potencialmente determinantes da hipóxia tecidual, ocasionando ainda a diminuição da P_vO_2 para níveis subnormais.

Independentemente das variações corporais (relacionadas com o estadio de desenvolvimento, actividade física ou alterações patológicas) o consumo de oxigénio apresenta diferenças acentuadas, de tecido para tecido e momento de observação (5,35). Assim, a $\dot{V}O_2$, (em mL/min/kg) varia entre cerca de 100 para o miocárdio, 70 no cérebro, fígado e rins, 1 a 3 para a pele e músculos em repouso e cerca de 4 a 5 para o conjunto de tecidos. Isto não significa que haja uma equivalência constante entre a distribuição do débito cardíaco e as necessidades em oxigénio de cada tecido. A par de territórios hiperfundidos em repouso (por exemplo, os rins) existem outros menos perfundidos (por exemplo, os músculos). Em repouso, o fornecimento de oxigénio pode ser garantido por perfusão elevada (como nos rins) ou por uma extracção de oxigénio quase total (por exemplo, o miocárdio). O exercício eleva 10 a 15 vezes o $\dot{V}O_2$ corporal, particularmente devido ao reforço do consumo do oxigénio muscular para valores 20 a 100 vezes superiores aos basais; a $\dot{V}O_2$ do miocárdio quadriplica, mas sem aumento da diferença ar-

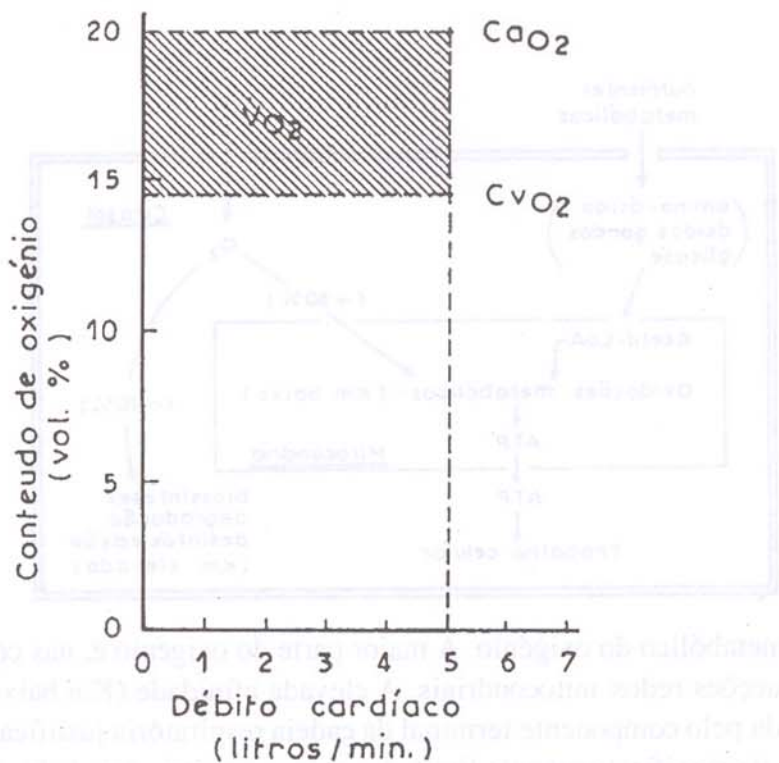
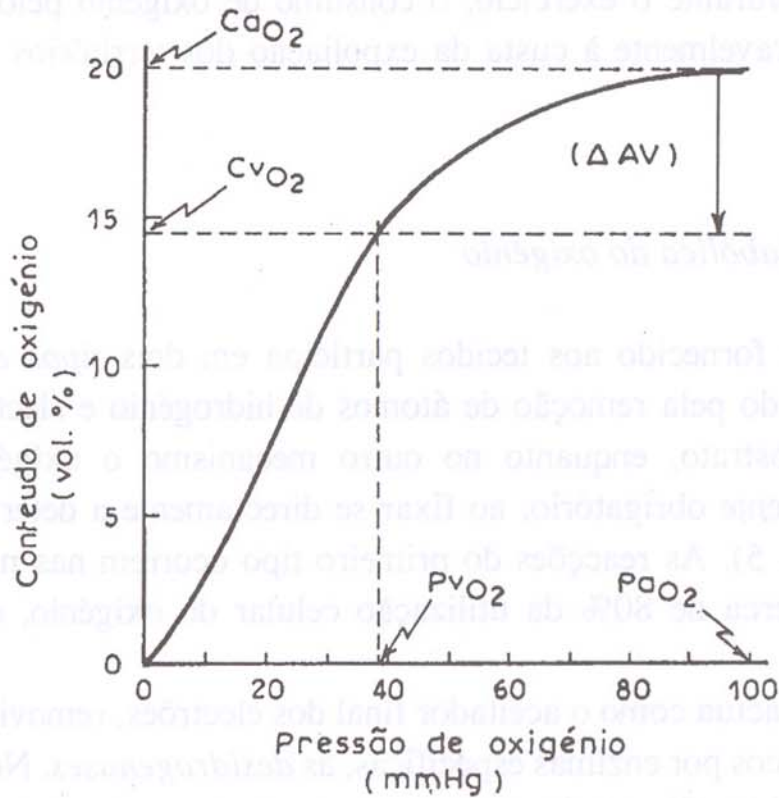


Fig. 4 – Relação entre a curva de dissociação da oxiemoglobina e as variáveis da equação de Fick. O produto da diferença arteriovenosa (no conteúdo do sangue em oxigênio, dependente da posição da curva de dissociação da oxiemoglobina) pelo débito cardíaco (Q) explicita o consumo tecidual de oxigênio (VO_2).

terio-venosa. Durante o exercício, o consumo de oxigénio pelo músculo aumenta consideravelmente à custa da expoliação dos territórios esplancnico e renal (36,37).

Utilização metabólica do oxigénio

O oxigénio fornecido aos tecidos participa em dois *tipos de oxidações*, um caracterizado pela remoção de átomos de hidrogénio e electrões das moléculas de substrato, enquanto no outro mecanismo o oxigénio participa como um reagente obrigatório, ao fixar-se directamente a determinado substrato (38) (Fig. 5). As reacções do primeiro tipo ocorrem nas mitocôndrias e representam cerca de 80% da utilização celular do oxigénio, em condições basais.

O oxigénio actua como o aceitador final dos electrões, removidos dos substratos metabólicos por enzimas específicas, as *desidrogenases*. Neste processo, os electrões (e iões H^+) são transportados por etapas ao longo de uma série de

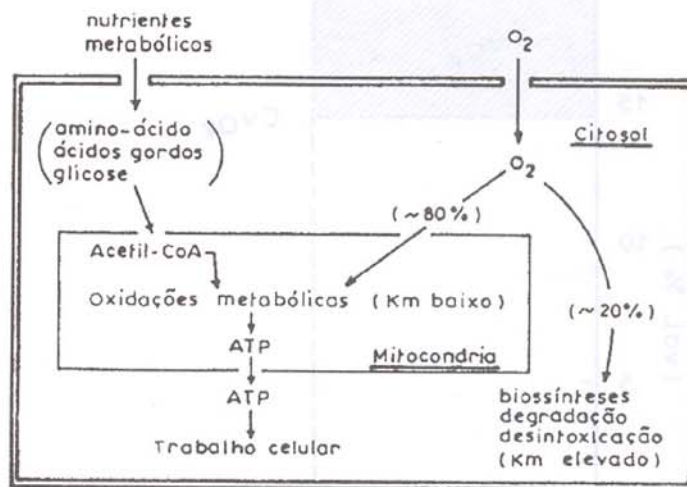


Fig. 5 – Destino metabólico do oxigénio. A maior parte do oxigénio é, nas células, consumido em reacções redox mitocondriais. A elevada afinidade (Km baixo) para o oxigénio exibida pelo componente terminal da cadeia respiratória justifica que a formação de ATP seja significativamente limitada apenas em situações de hipóxia extrema. O oxigénio restante é utilizado directamente na oxidação de substratos, em reacções que, na maioria, manifestam baixa afinidade para o O_2 (Km elevado). Neste caso, a deplecção moderada de oxigénio pode reduzir significativamente as oxidações em causa.

substâncias proteicas (desidrogenases, citocromos, proteínas ferro-enzimas) e não-proteicas (coenzima Q), em grande parte embebidas na membrana interna mitocondrial, e que constituem a *cadeia respiratória* (39). O transporte de electrões baseia-se em reacções sucessivas de oxi-redução; os electrões fluem dos componentes das cadeias respiratórias com potencial redox mais negativo para os mais positivos, até ao oxigénio; este, depois de reduzido, combina-se com os iões H^+ libertados no processo, formando água (40,42).

O equilíbrio da cadeia respiratória é estabelecido pela pressão dos electrões, de modo a que a coenzima do primeiro componente (nicotinamida-adenina-dinucleótido, NAD, das desidrogenases piridínicas) que recebe directamente os electrões (ou átomos de hidrogénio) dos substratos se encontra virtualmente reduzido, enquanto o componente terminal (o complexo de citocromos aa_3) está sobretudo oxidado.

Numa perspectiva energética, a transferência de cada par de electrões (do NAD reduzido para o oxigénio) corresponde à libertação de enorme quantidade de energia livre (cerca de 53 Kcal/mole), ao longo das diversas etapas em que decorre o transporte de electrões na cadeia respiratória. Parte dessa energia é conservada, sob a forma de ligações fosfato de alta energia que caracterizam o adenosinotri-fosfato (ATP), no processo designado por *fosforilação oxidativa* (43,44).

Todavia, apenas em três sectores da cadeia respiratória é a energia libertada suficiente para a formação de uma molécula de ATP, a partir do adenosinodifosfato (ADP) e fosfato inorgânico (Pi). Assim, por cada par de electrões que atravessam toda a extensão da cadeia respiratória até ao oxigénio são formadas três moléculas de ATP (45). O mecanismo exacto desta conversão energética ainda está por esclarecer mas deverá basear-se em duas características: (i) libertação sequencial de energia através de várias etapas de transferência de electrões; (ii) trocas de prótons, que saem e entram nas mitocôndrias no decurso de algumas daquelas etapas.

De acordo com a hipótese mais plausível (*teoria quimio-osmótica da fosforilação oxidativa*) (46,47), a energia local da oxi-redução desenvolvida pelo transporte de electrões é utilizada para expulsar prótons (e outros iões) através da membrana mitocondrial contra um gradiente electroquímico (Fig. 6).

À medida que os prótons regressam à mitocôndria por gradiente favorável, parte da energia livre é utilizada na formação do ATP, por fosforilação do ADP (48). O ATP assume-se como o principal transportador de energia

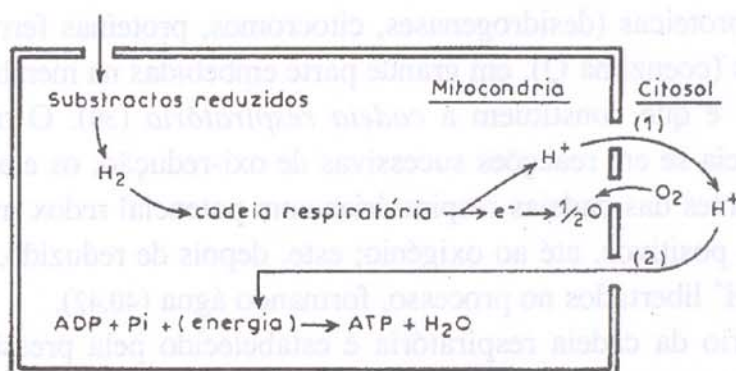


Fig. 6 – Teoria químio-osmótica da fosforilação oxidativa. A utilização mitocondrial do oxigénio visa essencialmente a obtenção de energia química para o transporte de prótons (H^+) contra um gradiente electroquímico (1). Parte daquela energia é aproveitada para gerar ATP do ADP e fosfato inorgânico (Pi) quando, por acção de um gradiente favorável, se assiste ao reingresso dos prótons na mitocondria (2).

química disponível para as diversas formas de trabalho celular: biossínteses, trabalho mecânico (contrações) e trabalho osmótico (transporte).

Um aspecto com potenciais implicações fisiológicas diz respeito à elevada afinidade para o oxigénio da oxidase terminal da cadeia respiratória (o citocromo aa_3) (49). Nestas condições, a formação de ATP não será reduzida por depleção moderada do oxigénio mas apenas quando o fornecimento de oxigénio aos tecidos for substancialmente limitado.

Os restantes 20% do consumo local do oxigénio correspondem a reacções essencialmente extra-mitocondriais, localizadas em diversos compartimentos intracelulares; estas oxidações, associadas a complexos enzimáticos (*mono- e dioxigenases*) que fixam directamente o oxigénio às moléculas de substrato, participam na biossíntese, degradação e desintoxicação de algumas espécies moleculares influentes na actividade normal das células (50). Ao contrário das oxi-reduções subjacentes à fosforilação oxidativa, algumas daquelas reacções exibem baixa afinidade para o oxigénio, o que poderá justificar limitações significativas nas respectivas actividades por depleção moderada no fornecimento de oxigénio aos tecidos (51).

Como foi referido, a energia livre dos substratos metabólicos é parcialmente conservada sob a forma de energia química inerente à estrutura do ATP, em resultado das ligações covalentes formadas pelos dois grupos terminais de fosfato. Desta forma, cada molécula de ATP é gerada através da

transferência de um grupo fosfato (Pi) para o ADP, ou de dois grupos fosfato para o AMP (adenosinomonofosfato), em reacções enzimáticas quimicamente associadas a etapas de oxidação, específicas das vias catabólicas. Através da transferência de um ou dois dos seus grupos fosfato terminais para compostos metabólicos com menor conteúdo energético, o ATP actua como um intermediário comum entre o catabolismo e a reacções próprias do trabalho biológico, cedendo-lhes a energia química necessária (52).

Grande parte das oxidações metabólicas geradoras de ATP utiliza o oxigénio como aceitador final de electrões, isto é, decorrem em aerobiose. Isso não impede que o ATP seja formado também em anaerobiose, como sucede na oxidação da glicose pelas células facultativas. Nestas condições, todas as células em anaerobiose requerem 18 vezes mais glicose (por unidade de peso e tempo) para produzir o ATP nas quantidades que seriam obtidas em aerobiose (53). A *respiração celular*, que constitui o processo pela qual as células aeróbias obtêm energia por oxidação das moléculas nutrientes pelo oxigénio molecular, envolve quatro grandes etapas (Quadro I).

QUADRO I

Etapas principais da respiração celular

-
- a) Oxidação glicolítica da glicose, β -oxidação dos ácidos gordos, degradação oxidativa dos aminoácidos;
 - b) Descarboxilação e oxidação dos produtos finais, resultantes de (a) pelo ciclo de Krebs, com libertação de CO_2 , H^+ e electrões;
 - c) Transferência dos iões H^+ e electrões para o oxigénio molecular, através da cadeia respiratória, com libertação de grande quantidade de energia livre;
 - d) Conservação de uma fracção importante (cerca de 40%) da energia livre obtida em (c) sob a forma de ATP, por acção da fosforilação oxidativa do ADP, no decurso do transporte de electrões.
-

À excepção da glicólise anaeróbia, todas as restantes sequências têm lugar nas mitocôndrias. O ciclo de Krebs caracteriza-se como a via comum do metabolismo oxidativo das três principais classes de nutrientes energéticos: glicose, ácidos gordos e aminoácidos (Fig. 7).

Além de preparar a glicose para a respiração celular, transformando-a em acetil-CoA, a glicólise é ainda uma via de recurso em situações de hipóxia

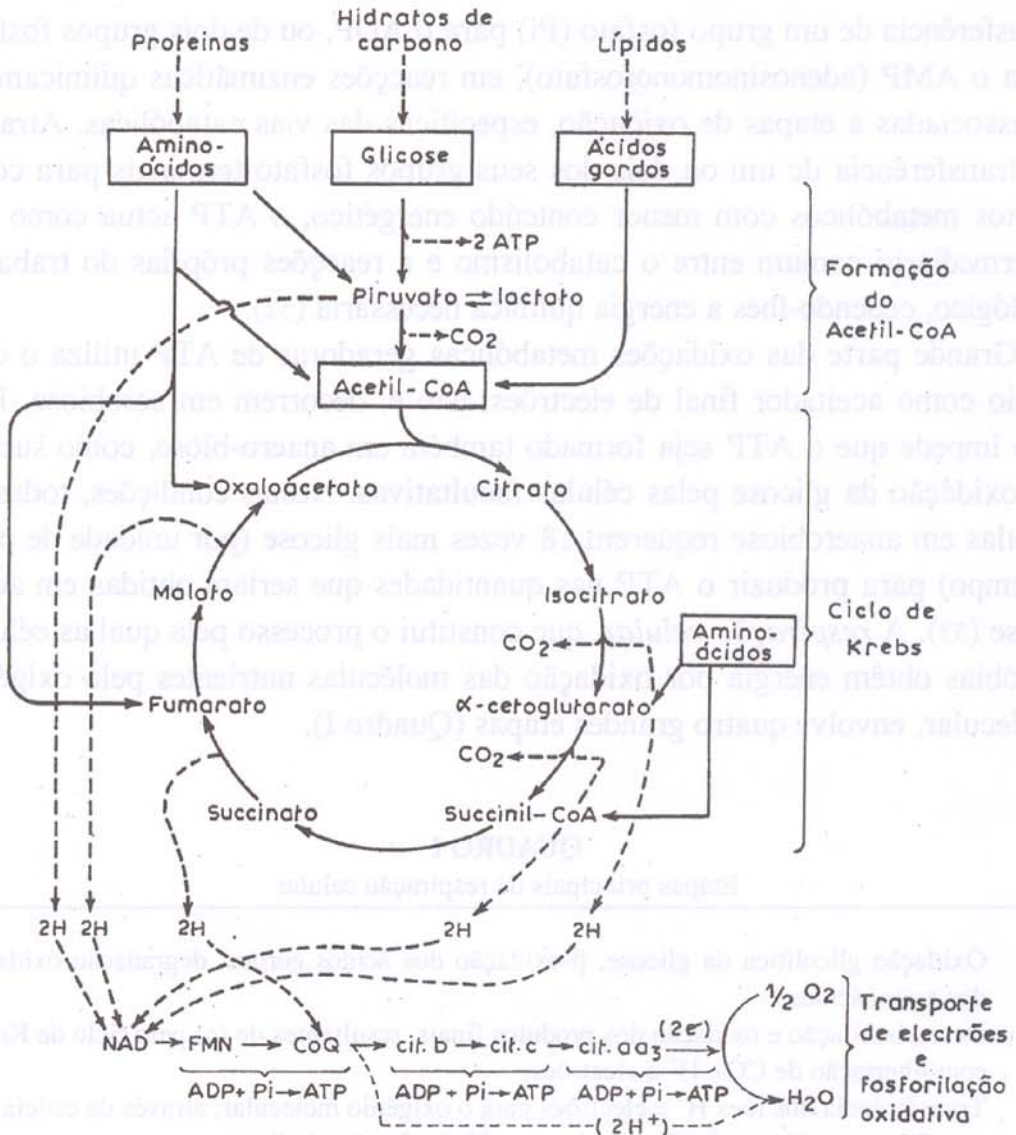


Fig. 7 – Via comum da oxidação aeróbica da glicose, ácidos gordos e aminoácidos, representativa da respiração celular. Numa primeira fase, cada um daquelas nutrientes, derivado de macromoléculas alimentares (hidratos de carbono, lípidos e proteínas) converte-se em acetil-CoA. Há que salientar que metade dos aminoácidos naturais são transformados directamente em metabolitos do ciclo de Krebs. No ciclo de Krebs ocorre a descarboxilação e oxidação do citrato, resultante da condensação do acetil-CoA e oxaloacetato. Os átomos de hidrogénio são encaminhados finalmente para a cadeia respiratória onde, através da libertação de energia livre subsequente ao transporte de electrões, são formadas 2 ou 3 moléculas de ATP por cada par de electrões transportados até ao oxigénio. Pelo par de electrões provenientes de oxidação do succinato em fumarato, recebidos na cadeia respiratória ao nível da coenzima Q (CoQ), são geradas 2 moléculas de ATP. Os restantes electrões, canalizados através das desidrogenases piridínicas (NAD-dependentes), conduzem à formação de 3 moléculas de ATP por par de electrões.

ou anóxia grave. A actividade glicolítica que, em aerobiose, decorre lentamente ao ritmo do ciclo de Krebs, aumenta imediatamente quando diminuem as disponibilidades celulares em oxigénio (Fig. 8a). Nestas condições o piruvato excede a capacidade de degradação em acetil-CoA, transformando-se em lactato.

Enquanto o sistema enzimático glicolítico não for inibido pelo excesso de lactato (que diminui o pH) e dispuser de aceitadores de electrões (NAD oxidado), as células obtêm ATP em quantidades suficientes para as suas funções mas, apenas, durante breves minutos em anaerobiose (53).

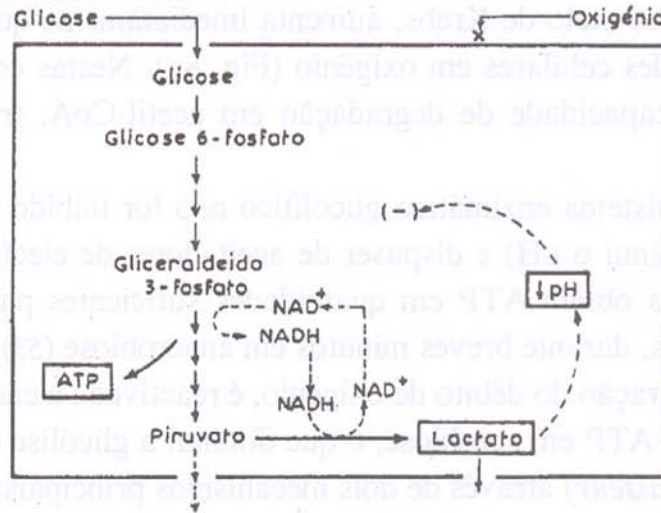
Com a restauração do débito de oxigénio, é reactivada a cadeia respiratória e a produção de ATP em aerobiose, o que diminui a glicólise e a produção de lactato (*efeito Pasteur*) através de dois mecanismos principais: (i) inibição das enzimas reguladoras da glicólise (designadamente a fosfofrutocinase) pelo ATP; (ii) o NAD reduzido, que participava na redução do piruvato em lactato, passa a ser oxidado pela transferência dos seus equivalentes redutores para a cadeia respiratória (Fig. 8 b) (40,42,54).

Pelo exposto verifica-se que existe uma integração perfeita da glicólise e respiração celular, na dependência do teor de oxigénio disponível nas células.

Neste aspecto há que distinguir entre a PO_2 intra-celular e a PO_2 intramitocondrial (55). Em condições normais, as concentrações de oxigénio presentes nas células são superiores às necessidades energéticas; a PO_2 intramitocondrial pode atingir níveis tão baixos como 1 mmHg sem que sobrevenham alterações na fosforilação oxidativa; por outro lado, o funcionamento da cadeia respiratória depende não só do oxigénio como ainda da concentração dos seus componentes, substratos e ADP (52,56,58). *In vivo*, a única variável significativa é a concentração de ADP ou, mais propriamente, a relação ATP/ADP (59,60).

As necessidades energéticas regulam a produção de energia que, exceptuando condições de hipóxia extrema, são independentes da PO_2 local. Havendo ATP disponível em quantidades suficientes para o trabalho celular (relação ATP/ADP elevada), são deprimidas transitoriamente todas as etapas que possam regular a sua formação (por exemplo, degradação do glicogénio, glicólise, ciclo de Krebs, fosforilação oxidativa). Pelo contrário, quando as necessidades energéticas excedem as disponibilidades (relação ATP/ADP baixa) essas etapas são activadas, de forma a aumentarem a produção de ATP (Quadro II) (52).

(a) ANAEROBIOSE



(b) AEROBIOSE

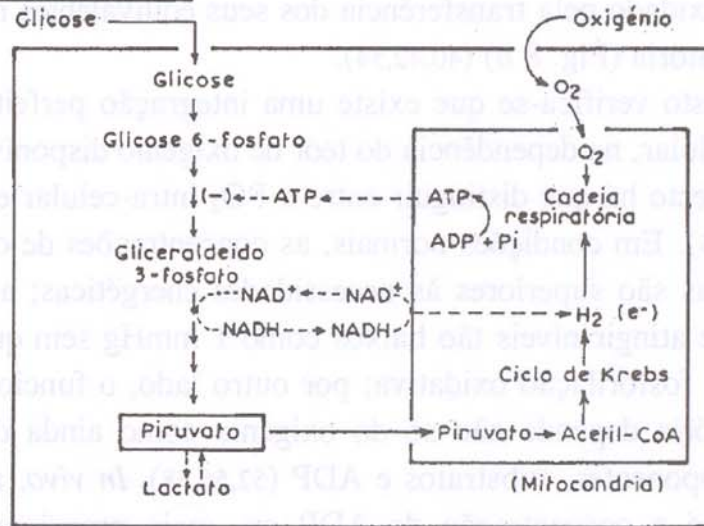


Fig. 8 – Aproveitamento metabólico da glicose em anaerobiose (a) e aerobiose (b). Na ausência de oxigênio prevalece a oxidação da glicose em piruvato e lactato. As reduzidas quantidades de ATP formado nestas condições asseguram a viabilidade das funções celulares enquanto as enzimas glicolíticas não forem inibidas pela diminuição do pH, devido à acumulação intracelular de lactato. Em aerobiose, é mínima a conversão do piruvato em lactato; o piruvato, ao transformar-se em acetil-CoA, dinamiza o ciclo de Krebs. Os electrões resultantes são encaminhados na cadeia respiratória para a seu aceitador final, a oxigênio. Neste processo, grande parte da energia livre do transporte de electrões é conservada sob a forma de ATP, por si um inibidor das enzimas reguladoras da glicólise.

QUADRO II

Algumas enzimas e etapas reguladoras do metabolismo do glicogénio, glicólise e respiração celular sensíveis às concentrações relativas dos nucleótidos adenílicos

Enzima ou sequências metabólicas	Activador	Inibidor
Fosforilase do glicogénio	AMP	ATP
Fosfofrutocinase	AMP, ADP	ATP
Piruvato-cinase	—	ATP
Desidrogenase pirúvica	ADP	ATP
Citrato-sintase	—	ATP
Desidrogenase isocítrica	ADP	ATP
Fosforilação oxidativa	ADP	—

De facto, o ATP, ADP e, por vezes também, o AMP, são moduladores importantes de algumas enzimas que participam na regulação metabólica.

Os efeitos simultâneos e opostos do ATP e seus produtos de degradação (ADP e AMP) no metabolismo e estado energético das células podem ser expressas pelo que se designa como a *carga energética celular* (52), derivada da seguinte equação:

$$\text{Carga energética} = 0,5 \left(\frac{[\text{ADP}] + 2[\text{ATP}]}{[\text{AMP}] + [\text{ADP}] + [\text{ATP}]} \right)$$

A carga energética celular pode variar de 0 (em que todos os nucleótidos adenílicos estão sob a forma de AMP) a 1 (apenas como ATP). No estado de equilíbrio metabólico, em que a produção de ATP equivale à sua utilização, a carga energética celular é aproximadamente igual a 0,85. Abaixo destes valores, são acentuadas todas as sequências metabólicas que conduzem à função de ATP, por modulação positiva das enzimas reguladoras pelas concentrações relativas da ATP, ADP e AMP, sendo reprimidas as sequências que consomem ATP. Pelo contrário, acima de 0,85 (excesso de ATP disponível) diminui a formação e aumenta o consumo de ATP.

Todos os nutrientes celulares oxidados em aerobiose contribuem para a formação de ATP. Todavia, em condições basais de repouso, cerca de 50% do consumo de oxigénio deriva da oxidação dos ácidos gordos; da fracção restante da VO_2 corporal, cerca de 25% são atribuídos à oxidação (sobretudo

hepática e renal) de aminoácidos e 20% ao consumo da glicose (particularmente pelo cérebro) (50,61), Estas proporções variam no decurso do exercício, prevalecendo então o consumo da glicose sobre a dos ácidos gordos, em ambos os casos muito elevado (61,64),

Principais alterações metabólicas em hipóxia

Abaixo de determinados níveis, a pressão de oxigénio do sangue arterial e tecidos torna-se crítica, isto é, conduz a diversas alterações da função celular (5,35). Estas anomalias começam a verificar-se a P_aO_2 de 30-35 mmHg (depende dos órgãos considerados) e P_vO_2 de 18 a 25 mmHg, ao que correspondem pressões de oxigénio teciduais de 10 mmHg, em média. *In vivo*, as pressões críticas de oxigénio nas mitocôndrias, citoplasma, espaço extracelular e sangue arterial são, respectivamente, de 1, 3, 10 e 30 mmHg. Estas diferenças, que reflectem a resistência interposta à difusão do oxigénio entre os diversos sectores, são irrelevantes para níveis de P_aO_2 superiores a 30 mmHg.

Logo que as disponibilidades arteriais e celulares em oxigénio ultrapassam aqueles limites sobrevêm alterações metabólicas importantes, particularmente no catabolismo da glicose e ácidos gordos, o que se resume na Fig. 9.

Com a depleção do oxigénio, diminui o transporte de electrões pela cadeia respiratória e subsequente fosforilação oxidativa (65); não sendo removidos, esses electrões mantêm no estado reduzido as coenzimas das desidrogenases do ciclo de Krebs e da β -oxidação dos ácidos gordos, causando a inibição de ambas as sequências metabólicas. Em compensação é activada a glicólise, favorecida pelo aumento da captação da glicose pelas células e mobilização dos depósitos de glicogénio, com imediata fosforilação da glicose em glicose-6-fosfato (53).

A estimulação da oxidação anaeróbia da glicose associa-se sobretudo à activação da principal enzima reguladora da via, a fosfofrutocinase, induzida pela acumulação intracelular de AMP e ADP e, também, do fosfato inorgânico. Em consequência, aumenta a produção de piruvato que, em condições aeróbias, ingressaria na mitocôndria para se converter em acetil-CoA, com posterior aproveitamento pelo ciclo de Krebs (53,54). Em hipóxia, o piruvato acaba por se transformar em lactato, devido ao aumento da relação $NADH_2/NAD$ no citosol; a acumulação de $NADH_2$ neste compartimento ce-

BIOQUÍMICA DA ISQUÊMIA - I
 FORNECIMENTO E CONSUMO DE OXIGÊNIO PELOS TECIDOS EM GERAL

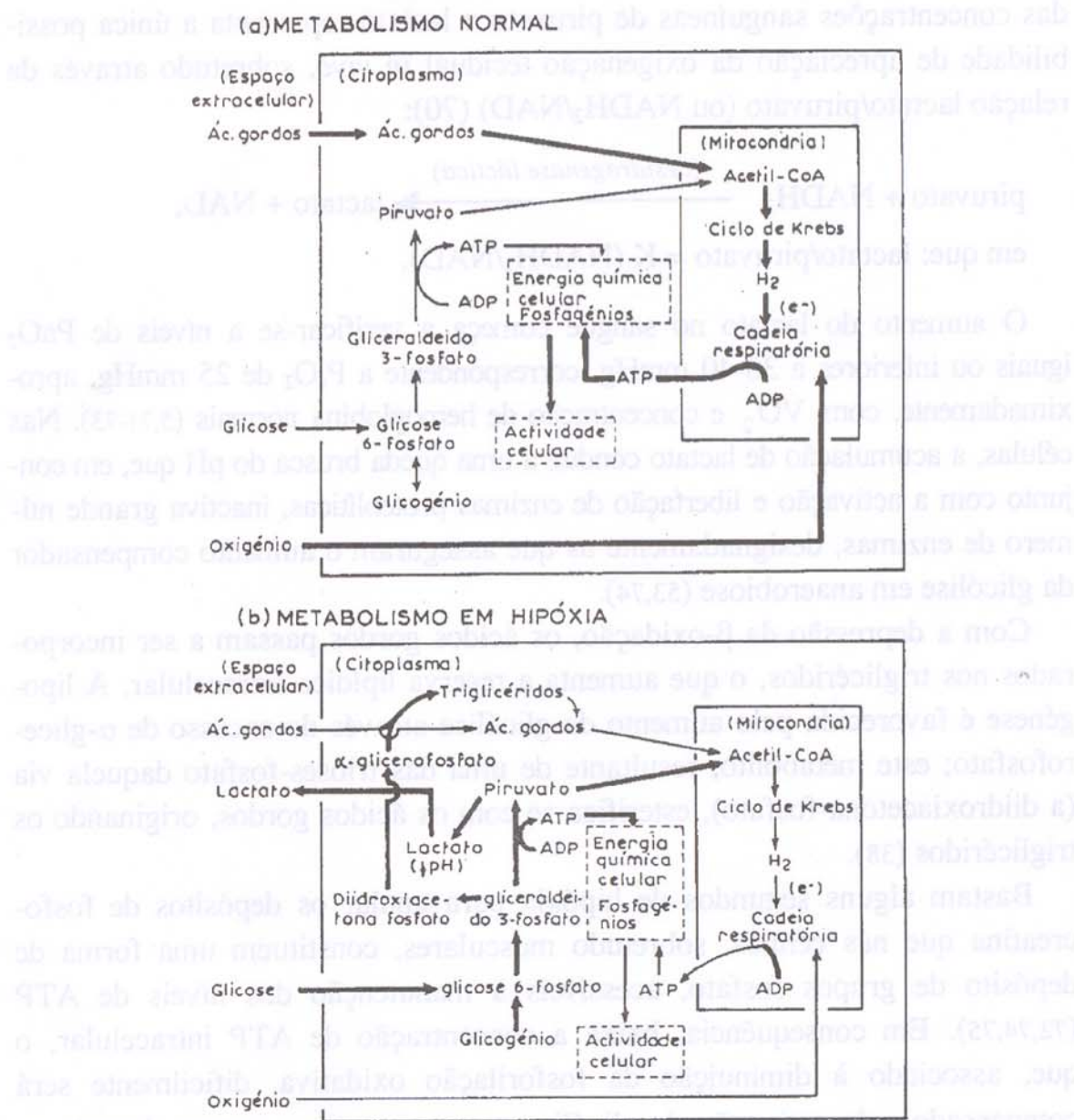
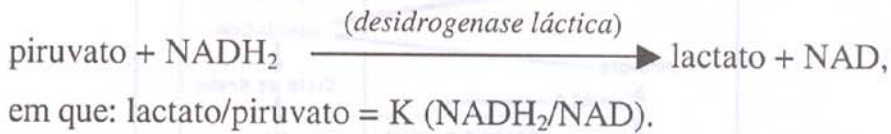


Fig. 9 – Representação esquemática da aproveitamento metabólico da glicose e ácidos gordos em condições normais (a) e hipóxia (b).

ular resulta também da diminuição do transporte de electrões pela sequência mitocondrial, o que anula a eficácia dos sistemas de transporte de equivalentes redutores entre o citosol e a mitocondria (66-68).

O lactato acumula-se nas células e difunde parcialmente, tal como o piruvato, para o espaço extra-celular; assim, a concentração sanguínea de ambos os metabolitos não reflecte, senão incompletamente, a intensidade do metabolismo anaeróbio e grau de hipóxia celular (69,70). Todavia, a determinação

das concentrações sanguíneas de piruvato e lactato representa a única possibilidade de apreciação da oxigenação tecidual *in vivo*, sobretudo através da relação lactato/piruvato (ou NADH_2/NAD) (70):



O aumento do lactato no sangue começa a verificar-se a níveis de PaO_2 iguais ou inferiores a 30-40 mmHg, correspondente a P_vO_2 de 25 mmHg, aproximadamente, com $\dot{V}\text{O}_2$ e concentração de hemoglobina normais (5,71-73). Nas células, a acumulação de lactato conduz a uma queda brusca do pH que, em conjunto com a activação e libertação de enzimas proteolíticas, inactiva grande número de enzimas, designadamente as que asseguram o aumento compensador da glicólise em anaerobiose (53,74).

Com a depressão da β -oxidação, os ácidos gordos passam a ser incorporados nos triglicéridos, o que aumenta a reserva lipídica intracelular. A lipogénese é favorecida pelo aumento da glicólise através do excesso de α -glicerofosfato; este metabolito, resultante de uma das trioses-fosfato daquela via (a diidroxiaçetona-fosfato), esterifica-se com os ácidos gordos, originando os triglicéridos (38).

Bastam alguns segundos de hipóxia para anular os depósitos de fosfocreatina que nas células, sobretudo musculares, constituem uma forma de depósito de grupos fosfato, acessíveis à manutenção dos níveis de ATP (72,74,75). Em consequência, baixa a concentração de ATP intracelular, o que, associado à diminuição da fosforilação oxidativa, dificilmente será compensado pela activação da glicólise e, mesmo assim, apenas durante os minutos iniciais que seguem a instalação da hipóxia.

Sumário

O oxigénio é um reagente essencial ao organismo humano. Anomalias no fornecimento e/ou utilização celular do oxigénio justificam diversas situações patológicas e, em casos extremos, a morte do indivíduo. A isquémia, hipóxia, anóxia e disóxia representam disfunções na oxigenação tecidual.

O transporte de oxigénio dos pulmões aos tecidos periféricos baseia-se

num sistema complexo de quatro variáveis principais: trocas gasosas pulmonares, função cardiovascular, concentração de hemoglobina e afinidade da hemoglobina para o oxigénio. A quantidade de oxigénio transportado por unidade de tempo depende do débito cardíaco e do conteúdo do sangue em oxigénio; esta variável é afectada pelo produto da concentração de hemoglobina pelo seu poder oxifórico e saturação com oxigénio.

O fornecimento de oxigénio aos tecidos é ainda influenciado pelo débito cardíaco e distribuição da fluxo sanguíneo, sob regulação geral e/ou local. A cedência de oxigénio aos tecidos é coordenada pela difusão, em grande parte determinada pela pressão de oxigénio no sangue capilar. Esta variável depende do conteúdo do sangue e afinidade da hemoglobina para o oxigénio. Modulações apropriadas na posição da curva de dissociação da oxiemoglobina podem evitar que a PO_2 no sangue venoso capilar atinja o limiar crítico da oxigenação tecidual, assegurando níveis elevados da PO_2 ao longo do trajecto capilar. O modelo mais consentâneo à oxigenação tecidual é o dos «cones truncados» justapostos, cada um perfundido pelo seu próprio capilar, em regime de contra-corrente.

A quantidade de oxigénio consumido pelos tecidos por unidade de tempo é, pela equação de Fick, igual ao produto do débito cardíaco pela diferença arterio-venosa de oxigénio.

Ao nível dos tecidos, cerca de 80% do oxigénio é consumido em reacções de oxi-redução, em grande parte associadas à geração mitocondrial de energia química, sob a forma de ATP. O oxigénio restante (cerca de 20%) é utilizado na oxidação directa de diversos substractos metabólicos, em reacções de biossíntese, degradação ou desintoxicação celular.

A respiração celular permite que a célula em aerobiose obtenha o máximo possível de ATP, a partir da degradação oxidativa dos principais nutrientes celulares. Em anaerobiose, a actividade celular é assegurada durante alguns minutos pela glicólise, a partir de um consumo exagerado de glicose, a que se associa elevada produção de lactato. A situação é *reversível* através do efeito Pasteur, subsequente à reoxigenação celular.

O metabolismo revela-se adaptável às solicitações do momento e do teor celular em oxigénio, essencialmente através da relação ATP/ADP, expressa pela carga energética celular. Em hipóxia sobrevêm anomalias metabólicas, particularmente na oxidação da glicose e ácidos gordos; a par da diminuição do ATP e fosfocreatina, assiste-se à acumulação de lactato e aumento da lipogénese.

BIBLIOGRAFIA

1. ROBIN E.D. Dysoxia. Abnormal tissue oxygen utilization, *Arch. Int. Med.* 1977; 137:905.
2. NEELY J.R., MORGAN H.E. Relationship between carbohydrate and lipid metabolism and the energy balance of heart muscle, *Ann. Rev. Physiol.* 1974; 36: 413.
3. BRAUNWALD E, SOBEL B.F. Coronary blood flow and myocardial ischaemia in *Heart Disease*, vol. 2, E. Braunwald (ed), W. B. Saunders Company, Phyladelphia, London, Toronto 1980; pp. 1279-1308.
4. SILVER I.A. Tissue responses to hypoxia, shodk and stroke, in *Oxygen Transport to Tissue II*, vol. 75, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, J. Grote, D. Reneau, G. Thews (eds.), Plenum Presa, New York, London 1976; pp. 325-334.
5. MEYER P. *Physiologie Hummaine*, vol. 3, Flammarion Medicine-Sciences, Paris 1977, pp. 979-1019.
6. FINCH C.A., LENFANT C. Oxygen transport in man, *New Engl. J. Med.* 1972; 286: 407.
7. MARTINS E SILVA J. Função respiratória do sangue, *O Médico* 1981; 101: 745.
8. SHAPPEL S.D., LENFANT C.J.M. Physiological role of the oxyhemoglobin dissociation curve, in *The Red Blood Cell*, vol. II, 2.^a ed., D. Mac N. Surgenor (ed.), Acad. Press, New York 1975; pp. 841-871.
9. OBERG B. Overall cardiovascular regulation, *Ann. Rev. Physiol.* 1976; 38: 537.
10. HEISTAD D.D., ABBOUD F.M. Circulatory adjustments to hypoxia, *Circulation* 1980; 61: 463.
11. MELLANDER S. Systemic circulation: local control, *Ann. Rev. Physiol.* 1970; 32: 313.
12. SPARKS H.V.J., BELLONI F.L. The peripheral circulation: local regulation, *Ann. Rev. Physiol.* 1978; 40: 67.
13. RICHARDSON T.Q., GUYTON A.C. Effect of polycythemia and anemia on cardiac output and other circulatory factors, *Am. J. Physiol.* 1959; 197: 1167.
14. CONWAY J. Hemodynamic consequences of induced change in blood volume, *Circ. Res.* 1966; 18: 190.
15. SCHMID-SCHONBEIN H. Blood rheology and cardiac microcirculation: is there a place for hemodilution in coronary insufficiency?, in *Microcirculation of the Heart*, H. Tillmanns, W. Kubler, H. Zebe (eds.), Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1982; pp. 325-346.
16. VANHOUTTE P.M. Adrenergic neuroeffector interaction in the blood vessel wall, *Fed. Proc.* 1978; 37: 181.
17. DULING B.R., PITTMAN R.N. Oxygen tension: dependent or independent variable in local control of blood flow, *Fed. Proc.* 1975; 34: 2012.
18. DULING B.R., KLEITZMAN B. Local control of microvascular function: role in tissue oxygen supply, *Ann. Rev. Physiol.* 1980; 42: 373.
19. JOHNSON P.C., HEURICH H.A. Metabolic and myogenic factors in local regulation of the microcirculation, *Fed. Proc.* 1975; 34: 2020.

20. SHEPHERD A.P. Metabolic control of intestinal oxygenation and blood flow, *Fed. Proc.* 1982; 41: 2084.
21. KLOCKE F.J., ELLIS A.K. Control of coronary blood flow, *Ann. Rev. Med.* 1980; 31: 489.
22. ROWELL L.B., BRENGELMANN G.L., BLACKMON J.R. et al. Redistribution of blood flow during substained high skin temperature in resting man, *J. Appl. Physiol.* 1970; 28: 415.
23. HONING C.R., ODOROFF C.C., FRIERSON J.C. Active and passive capillary control in red muscle at rest and in exercise, *Am. J. Physiol.* 1982; 243: H 196.
24. HUDLICKÁ O., ZWEIFACH B.W., TYLER K.R. Capillary recruitment and flow velocity in skeletal muscle after contraction, *Microvasc. Res.* 1982; 23: 201.
25. THOMAS H.M., III LEFRAK S.S., IRWIN R.S. et al. The oxyhemoglobin dissociation curve in health and disease. Role of 2, 3-diphosphoglycerate, *Am. J. Med.* 1974; 57: 331.
26. MARTINS E SILVA J. Oxigenação tecidual. Mecanismos, anomalias e conseqüências metabólicas, *O Médico* 1981; 99: 680.
27. PERUTZ M.F. Stereochemistry of cooperative effects in haemoglobin, *Nature* 1987; 228: 726.
28. BENESCH R., BENESCH R.E. Intracelular organic phosphates as regulators of oxygen release by haemoglobin, *Nature* 1969; 221: 618.
29. BUNN H.F., JANDL J.H. Control of haemoglobin function within the red cell, *New Engl. J. Med.* 1970; 282: 1414.
30. GARBY L., MELDON J. *The Respiratory Function of Blood*, Topics in Hematology, M. W. Wintrobe (ed.), Plenum Med., Book Comp., New York, London 1977; pp. 151-163.
31. JONES J.G., HOLLAND B.M., VEALE K.E.A. et al. Available oxygen, a realistic expression of the ability of the blood to supply oxygen to tissues, *Scand. J. Haematol.* 1977; 22: 77.
32. GRUNEWALD W.A., SOWA W. Capillary structure and O₂ supply to tissue, *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 1977; 77: 150.
33. KROGH A. The number and the distribution of capillaries in muscles with the calculation of the oxygen pressure head necessary for supplying the tissue, *J. Physiol.* 1918; 52: 409.
34. MELDON J.H., GARDY L. The blood oxygen transport system, in *Diabetic Microangiopathy*, J. Ditzel, J. E. Poulsen (eds.), A. Lindgren & Soner A. B., Molndal 1975; pp. 19-30.
35. BURTON A.C. *Physiology et Biophysique de la Circulation*, 2.^a ed., Masson et Cie (eds.), Paris 1975; pp. 1-11.
36. NADEL E.R. Circulatory and thermal regulation during exercise, *Fed. Proc.* 1980; 39: 1495.
37. SALTIN B., ROWELL L.B. Functional adaptation to physical activity and inactivity, *Fed. Proc.*, 1980; 39: 1506.
38. STRYER L. *Biochemistry*, 2.^a ed., W. H. Freeman and Company, San Francisco 1981; pp. 233-453.
39. RACKER E. The membrane of the mitochondrion, *Sc. Am.* 1968; 218: 32.

40. CHANCE B. The nature of electron transfer and energy coupling reactions, *FEBS lett.* 1972; 23: 3.
41. HARMON H.J., CRANE F.C. Topographical definition of new sites on the mitochondrial electron transport chain, *Biochem. Biophys. Res. Comun.* 1974; 59: 326.
42. CHANCE B. Electron transfer: pathways, mechanisms and controls, *Ann. Rev. Biochem.* 1977; 46: 967.
43. LARDY H.A., FERGUSON S.M. Oxidative phosphorylation in mitochondria, *Ann. Rev. Biochem.* 1969; 38: 991.
44. SLATER E.C. Mechanism of oxidative phosphorylation, *Ann. Rev. Biochem.* 1977; 46: 1015.
45. BOYER P.D. Coupling mechanisms in capture, transmission and use of energy, *Ann. Rev. Biochem.* 1977; 46: 917.
46. ERNSTER L. Chemical and chemiosmotic aspects of electron transport-linked phosphorylation, *Ann. Rev. Biochem.* 1977; 46: 481.
47. MITCHELL P. Vectorial chemiosmotic processes, *Ann. Rev. Biochem.* 1977; 46: 996.
48. MITCHELL P. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemiosmotic type of mechanism, *Nature* 1961; 191: 144.
49. CHANCE B. Reaction of oxygen with respiratory chain in cells and tissue, *J. Gen. Physiol.* 1965; 49: 163.
50. BLOCK K. Oxygen and biosynthetic patterns, *Fed. Proc.* 1962; 21: 1058.
51. ROBIN E.D. Of men and mitochondria: coping with hypoxic dysoxia, *Am. Rev. Resp. Dis.* 1980; 122: 517.
52. ATKINSON D.E. Adenine nucleotides as stoichiometric coupling agents in metabolism and as regulatory nutrients: the adenylate energy charge, in *Metabolic Pathways*, 3rd ed., vol. 5, *Metabolic Regulation*, H. J. Vogel (ed.), Acad. Press, New York 1971; pp. 1-21.
53. KREBS H.A. The Pasteur effect and the relation between respiration and fermentation, in *Essays in Biochemistry*, vol. 8, P. N. Campbell, W. N. Aldridge (eds.), Acad. Press, London, New York, San Francisco 1972; pp. 1-34.
54. BERRY M.N. The function of energy-dependent redox reactions in cell metabolism, *FEBS lett* 1980; 117: K 106.
55. JONES D.P., MASON H.S. Gradients of O₂ concentration in hepatocytes, *J. Biol. Chem.* 1978; 253: 4874.
56. WILSON D.F., ERECINSKA M., DROWN C. et al. The oxygen dependence of cellular energy metabolism, *Arch. Biochem. Biophys.* 1979; 195: 485.
57. WILSON D.F., OWEN C.S., ERECINSKA M. Quantitative dependence of mitochondrial oxidative phosphorylation on oxygen concentration: a mathematical model, *Arch. Biochem. Biophys.* 1979; 195: 494.
58. DAVIS E.J., DAVIS-VAN THIENEN W.I.A. Control of mitochondrial metabolism by the ATP/ADP ratio, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1978; 83: 1260.

59. DRAWAND F., FOLLY G., WALTER P. Relation between extra- and intramitochondrial ATP/ADP ratios in rat liver mitochondria, *Biochem. Biophys. Acta* 1980; 590: 285.
60. DAVIES K.J.A., PACKER L., BROOKS G.A. Biochemical adaptation of mitochondria, muscle and whole-animal respiration to endurance training, *Arch. Biochem. Biophys.* 1981; 209: 539.
61. FELIG P., WAHREN J. Fuel homeostasis exercise, *New Engl. J. Med.* 1975; 293: 1078.
62. FELIG P., WAHREN J. Role of insulin and glucagon in the regulation of hepatic glucose production during exercise, *Diabetes* 28 1979; (suppl. 1): 71.
63. HAGENFELDT L. Metabolism of free fatty acids and ketone bodies during exercise in normal and diabetic man, *Diabetes* 28 1979; (suppl. 1): 66.
64. HOLM G., BJORNTORP P., JAGENBURG R. Carbohydrate, lipid and aminoacid metabolism following physical exercise in man, *J. Appl. Physiol.* 1978; 45: 128.
65. WILSON D.F., ERECINSKA M., DROWN C. et al. Effect of oxygen tension on cellular energetics, *Am. J. Physiol.* 1977; 2: G135.
66. HUCKABEE W.E. Metabolic consequences of chronic hypoxia, *Ann. N. Y. Acad. Sc.* 1965; 121: 723.
67. OLSON R.F. "Excess lactate" and anaerobiosis, *Ann. Int. Med.* 1963; 59: 960.
68. ILES R.A., BARON P.C., COHEN R.D. The effect of reduction of perfusion rate on lactate and oxygen uptake, glucose output and energy supply in the isolated perfused liver of starved rats, *Biochem J.* 1979; 184: 635.
69. HUCKABEE W.E. Control of concentration gradients of pyruvate and lactate across cell membranes in blood, *J. Appl. Physiol.* 1956; 9: 163.
70. BUCHER T., BRAUSER B., CONZE A. et al. State of oxidation-reduction and state of binding in the cytosolic NADH-system as disclosed by equilibration with extracellular lactate/pyruvate in hemoglobin-free perfused rat liver, *Eur. J. Biochem.* 1972; 27: 301.
71. FISCHER A.B., DODIA C. Lung as a model for evaluation of critical intracellular PO_2 , *Am. J. Physiol.* 1981; 241: E47.
72. JACOBS I., TESCH P.A., BAR-OR O. et al. Lactate in human skeletal muscle after 10 and 30s of supra-maximal exercise, *J. Appl. Physiol.* 1983; 55: 365.
73. HOGAN M.C., COX R.H., WELCH H.G. Lactate accumulation during incremental exercise with varied inspired oxygen fractions, *J. Appl. Physiol.* 1983; 55: 1134.
74. SAHLIN K. Intracellular pH and energy metabolism in skeletal muscle of man, *Acta Physiol. Scand.* 1978; (suppl. 455).
75. INGEMANN-HANSEN I., HALKJAER-KRIESTENSEN J., HAESKOV O. Skeletal muscle phosphagen and lactate concentrations in ischaemic dynamic exercise, *Eur. J. Appl. Physiol.* 1981; 46: 261.