

FACTORES INTERVENIENTES NO CONTROLO DA MICROCIRCULAÇÃO E DA OXIGENAÇÃO TECIDUAL

João A. Martins e Silva*

RESUMO

O metabolismo aeróbico celular depende do fornecimento de oxigénio. O sistema circulatório, a concentração da hemoglobina circulante e a afinidade da hemoglobina para o oxigénio mantêm o equilíbrio entre as necessidades gerais e o fornecimento de oxigénio à periferia. O sistema circulatório é controlado por mecanismos de acção sistémica e local, aqueles dependentes de sinais hormonais ou provenientes do sistema nervoso autónomo. A microcirculação engloba as ramificações mais finas da rede circulatória que, sendo sensíveis a agentes vasoactivos de origem metabólica ou à PO_2 local, regulam, de modo reflexo e imediato, o fluxo sanguíneo no interior dos tecidos.

SUMMARY

Cellular aerobic metabolism and functions are dependent on oxygen supply. Transport and delivery of oxygen to the cells is under control by circulatory system, hemoglobin concentration and hemoglobin oxygen affinity. Cir-

* Professor Auxiliar, Instituto de Química Fisiológica
(Director: Prof. Doutor Carlos Manso), Faculdade de Medicina de Lisboa.

culatory control is mediated through systemic and local mechanisms. Systemic mechanisms are stimulated by hormonal or autonomous nervous signals. Regulatory mechanisms unique to the terminal vascular bed function independently of the remainder of the circulatory systems. Microvascular tone is locally modulated by oxygen or metabolic factors to maintain oxygen levels in parenchymal cells.

INTRODUÇÃO

A vida humana é impossível sem oxigénio. Na realidade, grande parte da energia necessária ao funcionamento celular provém do aproveitamento do oxigénio molecular como aceitador terminal dos electrões. Desta actividade, assegurada por reacções de fosforilação oxidativa específicas das mitocóndrias, resulta a formação – extremamente eficiente, ainda que não exclusiva – do principal dínamo energético celular, o adenosinotri-fosfato (ATP).

Tudo indica que a manutenção do metabolismo e funções celulares depende do equilíbrio entre as quantidades de ATP produzidas e as consumidas (Fig. 1). Para o efeito, as células possuem mecanismos reguladores apropriados, muito sensíveis e eficazes, em que se salientam os mitocóndrios.

Quando a pressão do oxigénio (PO_2) intracelular baixa além dos determinados limites, diminui a respiração mitocondrial. A produção de ATP é desviada, como recurso, para as vias metabólicas anaeróbias. Sendo naturalmente diminuta a produção anaeróbia de ATP, os níveis energéticos celulares declinam para valores que, a breve prazo, comprometem as funções locais. Justifica-se assim o abaixamento rápido das reservas energéticas celulares, conseqüente à interrupção do fornecimento de oxigénio. A situação torna-se crítica em alguns tecidos – por exemplo, miocárdio e tecido cerebral – que se mantêm activos e sem lesões irreversíveis apenas durante alguns minutos sem oxigénio (1). Parece haver, portanto um certo grau de paralelismo, nas células sob condições fisiológicas, entre a necessidade/consumo de oxigénio e a energia química.

O fornecimento de oxigénio aos tecidos humanos requer um transportador especial – a hemoglobina eritrocitária – e vias de acesso rápido à periferia – o sistema circulatório.

As funções da hemoglobina tornam-se sobremaneira complexas, quando

FACTORES INTERVENIENTES NO CONTROLO DA MICROCIRCULAÇÃO
E DA OXIGENAÇÃO TECIDUAL

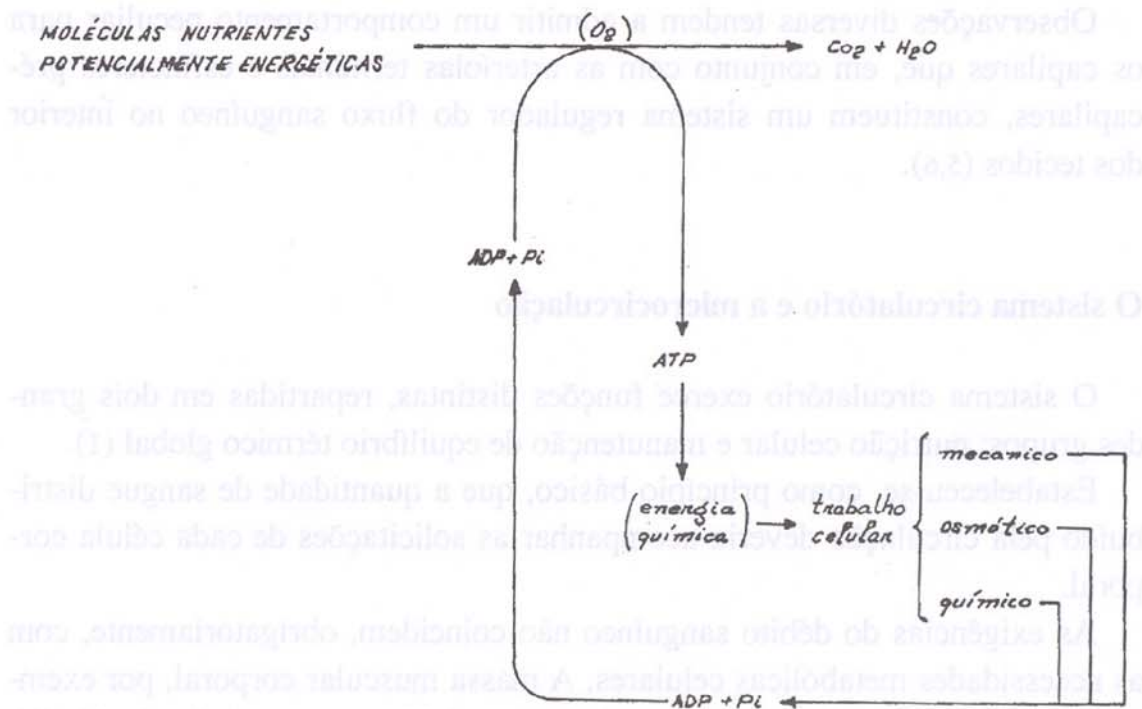


Fig. 1 – Esquema da formação e utilização celular do adenosinotri-fosfato (ATP). A maior parte do ATP celular resulta das oxidações aeróbicas mitocondriais.

analisadas no seu meio habitual de acção, o sangue total. Este, além de transportar o oxigénio dos pulmões para as células, canaliza o dióxido de carbono em direcção oposta. Ambas as actividades, que constituem a essência da função respiratória do sangue, baseiam-se nas reacções químicas reversíveis em que intervêm dois componentes fundamentais do eritrócito: a hemoglobina e a anidrase carbónica. Enquanto a maior parte do oxigénio é transportado sob a forma de oxiemoglobina, a fracção predominante do CO₂ tecidual chega aos pulmões como ião bicarbonato (2,3).

Constituindo o oxigénio um reagente fundamental para o metabolismo aeróbico dos tecidos periféricos e sendo o seu transporte mediado pela oxiemoglobina, é de admitir que a dissociação do O₂ das moléculas hemoglobínicas seja um factor importante para a oxigenação celular. Por outro lado, ainda que pareça comprovada a existência de um equilíbrio entre as exigências e fornecimento do oxigénio aos tecidos, está por explicar o mecanismo que regula ambos os processos.

O objectivo funcional do sistema circulatório completa-se ao nível de capilares, onde ocorrem as trocas sangue-tecidos.

Observações diversas tendem a admitir um comportamento peculiar para os capilares que, em conjunto com as arteríolas terminais e esfíncteres pré-capilares, constituem um sistema regulador do fluxo sanguíneo no interior dos tecidos (5,6).

O sistema circulatório e a microcirculação

O sistema circulatório exerce funções distintas, repartidas em dois grandes grupos: nutrição celular e manutenção de equilíbrio térmico global (1).

Estabeleceu-se, como princípio básico, que a quantidade de sangue distribuído pela circulação deveria acompanhar as solicitações de cada célula corporal.

As exigências do débito sanguíneo não coincidem, obrigatoriamente, com as necessidades metabólicas celulares. A massa muscular corporal, por exemplo, é, relativamente às suas necessidades metabólicas, pouco irrigada. Verifica-se o contrário para o rim, cujas funções excretoras exigem um elevado volume de sangue, bastante superior ao exigido pelo metabolismo aeróbico do tecido renal.

O coeficiente de extracção do oxigénio pode variar bastante de tecido para tecido e com as condições funcionais do momento. Por consequência, a par do controlo sobre a circulação total, condicionado pela actividade geral do organismo, admite-se a existência de mecanismos específicos que regulam a distribuição do sangue exigido por cada órgão ou tecido (4).

O sistema geral de regulação tem por objectivo assegurar um débito sanguíneo permanente e adequado às necessidades globais, sobretudo a determinados sectores prioritários, tais como o coração, cérebro e pulmões (1). A redistribuição do sangue por tecidos com poucas exigências em O_2 e elevado caudal sanguíneo – como a pele e o rim – para outros com elevada dependência de O_2 – tais como o miocárdio e o cérebro – constitui um processo, muito valioso e rápido, de protecção das estruturas vitais do organismo.

É possível apreciar o controlo da circulação total através da pressão motora ou da resistência vascular periférica, de acordo com a equação geral de hemodinâmica:

$$F = \Delta P/R$$

em que

F representa o débito, **P** indica a variação da pressão motora (através da actividade cardíaca) e **R** simboliza a resistência vascular à circulação local do sangue, por sua vez dependente da geometria (comprimento e diâmetro vascular) e das propriedades físicas do sangue (sobretudo a viscosidade).

A pressão motora (**P**) e a resistência vascular periférica (**R**) são influenciadas essencialmente pelo mesmo tipo de mecanismos gerais:

a – Sistema nervoso (simpático e parassimpático);

b – Substâncias humorais (hormonas e produtos metabólicos).

Enquanto as variações da resistência vascular assentam nas acções dos agentes referidos sobre a musculatura lisa das arteríolas, as alterações da pressão motora – em geral de aparecimento posterior à redistribuição de caudal sanguíneo – dependem da contractibilidade ou frequência cardíaca.

A regulação local do caudal sanguíneo, junto dos diferentes órgãos ou tecidos, é uma actividade reflexa que, além de se destinar a satisfazer as exigências específicas desses sectores, lhes atribui um certo grau de autonomia. Distinguem-se, neste caso, dois tipos principais de mecanismos: um baseado nas respostas variáveis dos vasos sanguíneos dos diferentes órgãos aos mesmos agentes humorais ou nervosos, restringindo-se o outro à acção dos metabolitos produzidos pelas células locais ou do PO_2 no meio (1,4).

O fornecimento e a distribuição de oxigénio aos tecidos são funções directamente ligadas à circulação periférica, através da resistência vascular e densidade capilar (6).

Entre as manifestações principais do controlo da circulação periférica salienta-se a vasodilação que ocorre nos fenómenos designados por autorregulação e hiperemia reactiva (7,8).

A autorregulação traduz, num sentido lato, a capacidade de qualquer órgão manter constante o seu nível de perfusão quando varia a pressão sistémica.

A hiperemia reaccional consiste no aumento excessivo do fluxo sanguíneo que acompanha a desobstrução de trajectos arteriais ou venosos, previamente ocluídos.

Ambos os fenómenos – autorregulação ou hiperemia reactiva – são geralmente referenciados a causas e mecanismos de controlo semelhantes.

Os resultados de JOHNSON e HENRICH (7) sugerem dois tipos de mecanismos reguladores do fluxo sanguíneo – miogénico e metabólico – activos em qualquer daquelas situações. Enquanto o mecanismo metabólico

condiciona a vasodilatação dos capilares à influência directa de produtos celulares ou da PO_2 no meio, a hipótese miogénica considera-a dependente apenas da pressão sistémica. O controlo miogénico caracteriza-se por actuar rapidamente, em contraste com o mecanismo de regulação metabólica, de início mais tardio mas com acção prolongada.

O predomínio de um ou outro tipo de controlo assenta, aparentemente, nas características estruturais do tecido ou órgão considerado. Mesmo nos músculos estriados, em que o controlo metabólico de circulação é um mecanismo indubitavelmente importante, intervém, por vezes, o controlo miogénico.

GRANGER e cols. (5) interpretam aqueles fenómenos sob uma perspectiva metabólica.

Assim, considere-se o caso de uma interrupção completa do fluxo sanguíneo para determinado sector tecidual. O fornecimento de oxigénio às células passa a depender da PO_2 capilar, intersticial e celular. Quando a PO_2 atinge níveis muito baixos, diminui a respiração mitocondrial. Daqui resulta uma vasodilatação regional, com elevação exagerada do aporte sanguíneo e aumento da densidade capilar, diferença artério-venosa de O_2 , fornecimento de O_2 às células, PO_2 intracelular e consumo de O_2 superior ao necessário (5).

A autorregulação tende, em contrapartida, a equilibrar o fluxo sanguíneo local, quando a pressão de perfusão de um órgão aumenta ou diminui substancialmente. Logo que a pressão sistémica declina, o fluxo sanguíneo regressa, após um abaixamento transitório, aos níveis anteriores. Na situação inversa, o fluxo sanguíneo aumenta para voltar, posteriormente, aos valores iniciais (8). Se a resposta do sistema arteriolar for baseada apenas num estímulo mecânico – variações de pressão de perfusão – não há possibilidades de uma normalização eficaz da oxigenação celular.

Com efeito, o principal factor de manutenção da oxigenação tecidual é a existência de um desnível suficientemente elevado da PO_2 artério-venosa, dependente de uma rede capilar de densidade acentuada. O declínio da pressão sistémica não favorece estas condições. A PO_2 intracelular diminui, em consequência de um desequilíbrio entre o aporte e o consumo interno de oxigénio.

O fluxo sanguíneo, parcialmente restaurado pela dilatação arteriolar resultante de um estímulo metabólico (hipóxia tecidual), é, contudo, insuficiente para a normalização da situação. Neste sentido, poder-se-á afirmar, de

acordo com GRANGER e cols. (5), que a autorregulação do fluxo sanguíneo, em resposta a variações da pressão sistémica tem importância discutível na restituição do fornecimento de oxigénio aos tecidos.

De acordo com os conceitos actuais sobre o esquema estrutural de microcirculação, distinguem-se três sectores funcionais diferentes (9):

- zona de resistência (arteriolar);
- zona de trocas (capilares);
- zona de estagnação (vénuas).

As arteríolas representam a principal zona de resistência geral ao fluxo sanguíneo, que ajustam de acordo com as necessidades teciduais em oxigénio e de modo a reduzir as variações da PO_2 capilar.

As vénuas, influenciadas sobretudo pelo sistema nervoso, interferem muito pouco com a regulação microvascular. Os capilares são o sector ideal para as trocas sangue/tecidos. Em contrapartida, quase não alteram o fluxo sanguíneo total. Todavia, nem todas as observações experimentais aceitam que a pressão capilar permaneça constante, através de mecanismos específicos da autorregulação, face a variações relativamente acentuadas da pressão intravascular. É o que se conclui dos resultados de GORE e BOHLEN (10), em que a pressão intracapilar varia proporcionalmente com a pressão arterial.

Existem mecanismos locais para a distribuição da perfusão, adaptando-a às trocas sangue/tecidos. A regulação da circulação capilar assenta aparentemente, pelo menos em alguns tecidos, na hipótese original de KROGH sobre a intermitência funcional da rede capilar (cit. em 11). Assim, os tecidos seriam irrigados com mais ou menos sangue, consoante as necessidades metabólicas, através da variação do número de capilares perfundidos num dado momento. Os capilares teriam a capacidade de se abrir ou fechar, intermitentemente e de modo regular, à passagem do sangue. Quando o metabolismo tecidual aumentasse, diminuiria progressivamente o grau de intermitência até que, ao atingir-se o consumo máximo de oxigénio, todos os capilares estivessem abertos e perfundidos com sangue.

A intermitência capilar resultaria da capacidade contráctil da parede vascular (12). Este aspecto está por esclarecer. Há provas favoráveis à participação dos esfíncteres pré-capilares na regulação do fluxo sanguíneo em alguns tecidos. O modelo proposto por GRANGER e cols. (5) considera que a presença de esfíncteres na origem de cada capilar controla o número dos microvasos perfundidos e, conseqüentemente, a área disponível para a difusão e

distância de difusão capilar/célula. Outras descrições sugerem que o mecanismo de controlo reside em toda a arteríola pré-capilar ou em constituintes estruturais da parede capilar (11).

A controvérsia sobre a localização anatómica da intermitência funcional dos capilares poderá explicar-se, provavelmente, por diferenças intertecduais.

A manutenção da homeostase tecidual depende de mecanismos sistémicos e locais, activos sobre a circulação vascular periférica. Em contraste com a estrutura arteriolar – dotada de anéis musculares bem individualizados que respondem a estímulos emanados do sistema nervoso autónomo – as paredes capilares, desprovidas de revestimento conjuntivo próprio, tornam-se parte integrante dos tecidos em que se distribuem e de cujas reacções não podem dissociar-se (4). Este facto justifica a provável influência de diversas substâncias metabólicas locais sobre o endotélio, pericitos e musculatura lisa dos esfíncteres pré-capilares, a par do desaparecimento progressivo do controlo pelo sistema nervoso autónomo, em que sobressai o simpático.

A circulação local adquire a autonomia funcional suficiente para as necessidades fisiológicas imediatas, independentemente do sistema nervoso central ou de acções hormonais. A capacidade de controlar o respectivo fluxo sanguíneo confere à microcirculação características próprias dos sistemas autorregulados, aliás confirmadas em diversos tecidos (5,11).

A microcirculação constitui, portanto, o local em que o sangue e os tecidos dos diversos órgãos corporais entram em contacto mais íntimo. A autorregulação inerente a esse sector da circulação terá por objectivo fundamental equilibrar as necessidades celulares em oxigénio com as quantidades transportadas pelos eritrócitos, evitando excessos ou faltas.

Transporte e fornecimento de oxigénio aos tecidos

O oxigénio recebido nos pulmões é transportado aos tecidos sob a forma de oxiemoglobina, contida nos eritrócitos. Este processo de transporte permite que se atinjam pressões adequadas à difusão, rápida e eficiente, do oxigénio para os tecidos.

Todavia, o fornecimento de oxigénio aos tecidos depende mais da sua afinidade para a hemoglobina do que da saturação com que se apresenta no sangue arterial. Esta característica reflecte-se na curva de dissociação da oxiemoglobina.

A descarga do oxigénio para os tecidos poderá considerar-se, em conjunto, condicionada aos seguintes parâmetros gerais (2):

- débito cardíaco;
- função pulmonar;
- fluxo de sangue que atravessa os tecidos;
- concentração da hemoglobina circulante;
- afinidade da hemoglobina para o oxigénio.

As duas primeiras variáveis – débito cardíaco e função pulmonar – dependem de mecanismos reguladores sistémicos. Interessa, por agora, debater apenas os três factores restantes, directamente envolvidos no controlo local da oxigenação tecidual.

A importância das alterações da afinidade da hemoglobina para o oxigénio torna-se evidente pela observação do fornecimento de oxigénio aos tecidos. O sangue deverá conter as quantidades de oxigénio adequadas às necessidades locais e fornecê-lo a tensões suficientes para que a resistência da difusão tecidual seja ultrapassada (13).

A curva de dissociação da oxiemoglobina traduz as alterações da configuração espacial das moléculas de hemoglobina, conseqüentes à libertação ou recepção do oxigénio (14). A baixa afinidade para o oxigénio que caracteriza a desoxiemoglobina justifica a elevada tensão de oxigénio presente nos pulmões, para que os grupos heme possam receber, sucessivamente, as respectivas moléculas de O_2 . Paralelamente, a pressão do oxigénio no sangue arterial que atravessa os pulmões passa de cerca de 40 mm Hg para quase 100 mm Hg, correspondente a, pelo menos, 95% de saturação. Qualquer eventual aumento da tensão de oxigénio nos pulmões pouco altera o grau de saturação do sangue, o que aliás se infere do aspecto sigmóide característico da curva de dissociação (Fig. 2).

As modificações sequenciais da afinidade para o oxigénio, observadas através da curva de dissociação, explicam a facilidade de combinação do oxigénio com a hemoglobina nos pulmões e a sua libertação ao nível dos tecidos.

Quando o sangue arterial chega à microcirculação passa-se o inverso verificado nos pulmões: o oxigénio liberta-se da hemoglobina para o plasma e, por fim, difunde para os tecidos, paralelamente com o declínio gradual da PO_2 no trajecto capilar.

A tensões de oxigénio próximas de 26 mm Hg, a pH 7,4 e a 37°C de temperatura, a saturação da hemoglobina é, no adulto normal, apenas de 50%. A

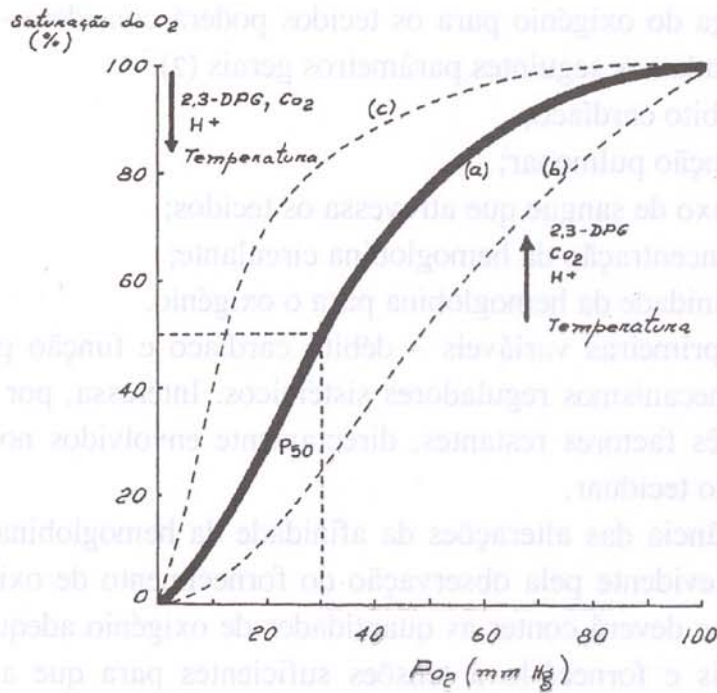


Fig. 2 – Curva de dissociação normal da oxiemoglobina (a). A afinidade da hemoglobina para o oxigênio diminui (b) quando aumenta o 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG), CO_2 , H^+ e temperatura, sucedendo o inverso (c) em condições recíprocas.

26 mm Hg liberta-se 50% do oxigênio transportado aos tecidos pela hemoglobina. Designa-se a PO_2 correspondente a 50% de saturação de hemoglobina por P_{50} . Este parâmetro eleva-se nas situações em que a afinidade da hemoglobina para o oxigênio diminui, o que, na curva de dissociação, é evidente por um desvio para a direita. Quando a afinidade da hemoglobina aumenta, libertando-se menos oxigênio, a P_{50} diminui, em consequência do desvio da curva para a esquerda (15).

A posição da curva de dissociação da oxiemoglobina depende de alterações locais do pH, (efeito Bohr) temperatura e concentração dos fosfatos orgânicos eritrocitários, em que se salienta o 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) (16,17).

O efeito Bohr induz modificações na estrutura terciária e quaternária das cadeias globínicas das moléculas de hemoglobina, particularmente, evidentes ao nível dos tecidos. A elevada produção de ácidos orgânicos – sobretudo ácido láctido – pelos tecidos em hipoxia, provoca o desvio da curva de dissociação para a direita, reforçando a capacidade de libertação do oxigênio junto dos tecidos em que é mais necessário. Este tipo de resposta resulta, afinal, das ca-

racterísticas próprias da oxiemoglobina, que se comporta como um ácido mais forte que a desoxiemoglobina. Em pH ácido anula-se a ionização de determinados radicais de histidina, conseqüente à oxigenação das moléculas de hemoglobina; a afinidade da hemoglobina para o oxigénio diminui.

O problema complica-se no sangue total, devido a intervenções múltiplas, emanadas dos quatro principais ligandos da hemoglobina: protões (H^+), O_2 , CO_2 e 2,3-DPG (15,17). Cada um destes factores modifica, por si, o comportamento das moléculas hemoglobínicas, ao mesmo tempo que antagoniza os efeitos dos restantes.

Não restam dúvidas sobre a importância do 2,3-DPG na regulação do fornecimento de oxigénio aos tecidos (18). A concentração molar daquele composto fosforilado, muito constante em condições normais, equivale à da hemoglobina; ambas as substâncias, bem como a afinidade da hemoglobina para o oxigénio, registam oscilações no indivíduo normal. Verifica-se mesmo uma correlação negativa entre a concentração da hemoglobina e o nível do 2,3-DPG ou da P_{50} (18,19). Estes factos sugerem o envolvimento dos parâmetros referidos nos mecanismos de compensação relacionados com o fornecimento do oxigénio aos tecidos. A afinidade da hemoglobina para o oxigénio poderia, deste modo, adaptar-se ao metabolismo aeróbico dos parênquimas.

Na realidade, a afinidade da hemoglobina para o oxigénio diminui quando se altera o sistema de transporte de oxigénio (por exemplo, nas anemias, em que diminui a concentração da hemoglobina), baixa a PO_2 ambiental (por exemplo, em indivíduos que vivem durante algumas semanas em altitudes elevadas) ou a PO_2 arterial (por exemplo, em indivíduos com cardiopatias congénitas ou com insuficiências pulmonares) (2). Em qualquer dos casos, assiste-se ao aumento das actividades metabólicas eritrocitárias, com produção elevada de 2,3-DPG. Este composto tende a unir-se à desoxiemoglobina ou, mais exactamente, aos resíduos das histidinas 143 e aos aminoácidos da extremidade-N das cadeias β adjacentes à cavidade central da molécula hemoglobínica (20). A união do 2,3-DPG à desoxiemoglobina estabiliza a molécula na forma com menor afinidade para o oxigénio, favorecendo a sua descarga para os tecidos; ao mesmo tempo, impede a formação da oxiemoglobina, que tem maior afinidade para o oxigénio.

Em conseqüência da fixação acelerada do 2,3-DPG à desoxiemoglobina, diminui a concentração intraglobular daquele composto fosforilado. Daqui resulta a estimulação da glicólise eritrocitária e o aumento da produção do

2,3-DPG, até se atingir um estado de equilíbrio compatível com as necessidades celulares em oxigénio (Fig. 3).

As alterações verificadas na afinidade da hemoglobina para o oxigénio tendem a reduzir as diferenças artéro-venosas em O_2 e a hipoxia celular (22). A diminuição da afinidade da hemoglobina, pelo aumento de 2,3-DPG, traduz-se no desvio da curva de dissociação para a direita. Em contrapartida, quando diminui o nível intraglobular em 2,3-DPG (por exemplo, no sangue para transfusões com algum tempo de depósito), regista-se o desvio da curva de dissociação para a esquerda, correspondente a maior dificuldade de descarga do oxigénio junto aos tecidos. Estes poderão tornar-se hipóxicos, a

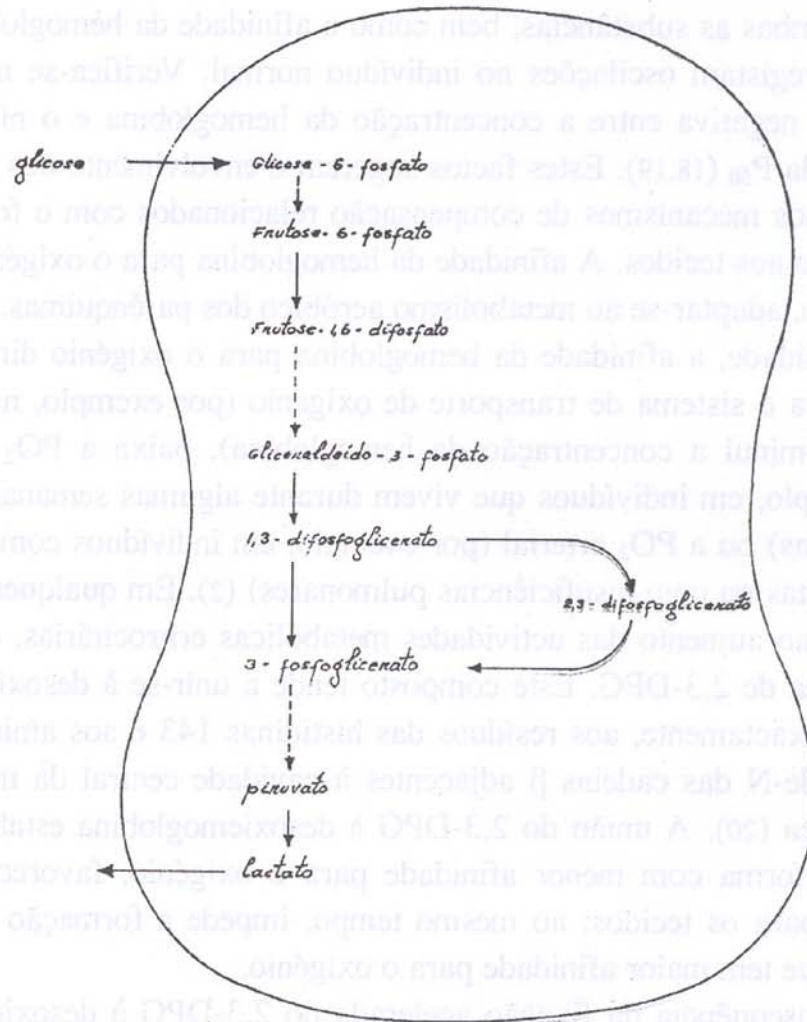


Fig. 3 – Simplificação esquemática da glicólise e via de Rapoport-Luebering no glóbulo vermelho.

despeito de ser normal a quantidade de oxigénio transportado pelo sangue que os atravessa.

Entretanto, continua por clarificar o mecanismo exacto responsável pela maior produção do 2,3-DPG nas condições indicadas. Tudo leva a crer que o sistema de adaptação eritrocitária às condições de oxigenação celular local esteja relacionado com a produção local de CO_2 e protões, não excluindo outros intervenientes possíveis, a esclarecer.

O aumento da PCO_2 e o declínio do pH que se verificam ao nível dos tecidos facilitam, indubitavelmente, a dissociação do oxigénio transportado pela hemoglobina e, por consequência, a oxigenação periférica (2,15). Acrescentem-se ainda os efeitos da combinação dos protões e do CO_2 , recebidos pela hemoglobina em troca com o oxigénio.

O CO_2 proveniente das reacções metabólicas celulares é hidrolisado, no interior do eritrócito, na presença da anidrase carbónica. O ácido resultante dissocia-se imediatamente em protões e iões bicarbonato. Enquanto os protões tendem a fixar-se à hemoglobina desoxigenada, os iões bicarbonato passam para o plasma, em troca com iões cloreto (equilíbrio de Hamburger). Todavia, parte de CO_2 recebido pelo eritrócito participa nas reacções de carbaminação da hemoglobina. O CO_2 une-se, neste caso, às extremidades-N das cadeias α e β , diminuindo o efeito Bohr. Em contrapartida, o 2,3-DPG, ao competir com o CO_2 para as cadeias da desoxiemoglobina, eleva o efeito Bohr e, conseqüentemente, minimiza a importância da carbaminação (23). O 2,3-DPG influencia ainda a distribuição iónica entre os eritrocitos e o plasma, exercendo acção tamponante intraeritrocitária (24,25).

A análise do transporte do oxigénio pelo sangue terá de abranger a difusão do oxigénio para os tecidos e o respectivo consumo metabólico.

As cinéticas do metabolismo intracelular e da difusão capilar/célula, bastante complexas e variáveis de tecido para tecido, têm sido estudadas matematicamente por diversos grupos de trabalho em sistemas diferentes.

O modelo apresentado por Meldon e Garby (13), para as trocas de O_2 e CO_2 entre os capilares e tecidos, pretende relacionar o metabolismo eritrocitário com os problemas físicos e químicos impostos pela difusão e metabolismo tecidual. O sangue é suposto como um sistema físico-químico. A afinidade da hemoglobina para o oxigénio, o estado ácido-base eritrocitário e a distribuição iónica entre os eritrocitos e o plasma são propriedades tidas como dependentes da circulação do O_2 , CO_2 , protões e 2,3-DPG. Os tecidos

obedeceriam ao esquema do cilindro de Krogh, em que cada capilar, de formato cilíndrico, é hipoteticamente rodeado pelo tecido em que se difunde o oxigénio (Fig. 4). A extensão (ou raio) do tecido activo, abastecido com oxigénio pelo capilar central, diminui progressivamente ao longo do capilar no sentido da extremidade venosa e depende da PO_2 sanguínea. Pode confirmar-se, através desses estudos, que a elevação do fluxo sanguíneo de perfusão e/ou do hematócrito aumenta o fornecimento do oxigénio aos tecidos. Mesmo que aqueles parâmetros diminuam substancialmente, o abastecimento tecidual em oxigénio é garantido pelo aumento do 2,3-DPG e consequente declínio da afinidade da hemoglobina para o oxigénio.

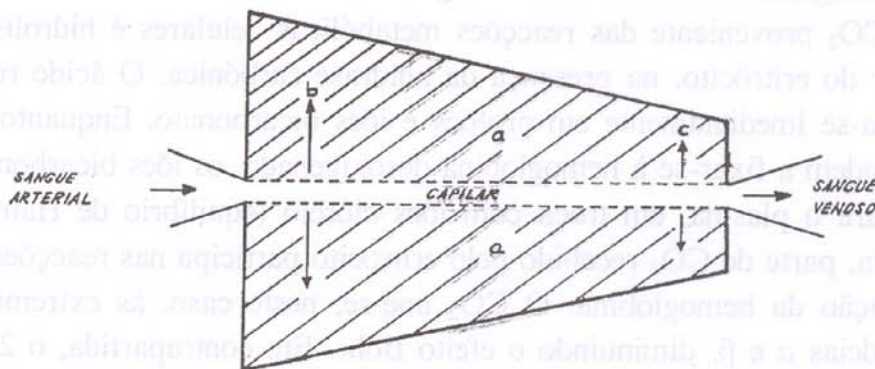


Fig. 4 – Representação do «cilindro de Krogh». Cada capilar está rodeado por tecido (a). O capilar actua como um cilindro donde difunde o oxigénio. Considera-se que esta difusão é significativa apenas numa direcção radial. O raio do tecido metabolicamente activo, fornecido do oxigénio pelo capilar, varia com a extensão deste e a PO_2 sanguínea. À medida que a PO_2 sanguínea declina ao longo do capilar (da extremidade arterial para a venosa) diminui posteriormente (de a para c) o raio do tecido abastecido com oxigénio, nas quantidades adequadas à manutenção da PO_2 tecidual acima do mínimo necessário ao respectivo metabolismo.

Há que admitir também, *in vivo*, a participação do débito cardíaco. Observou-se, todavia, que a redução do fornecimento de oxigénio à periferia, em doentes com enfarte do miocárdio, era compensada pela elevação da P_{50} que, independentemente da alteração do débito cardíaco, aumentava as disponibilidades periféricas em oxigénio (26).

A elevação do 2,3-DPG, em condições de hipoxia tecidual, resultaria da estimulação da glicólise eritrocitária – ao nível da actividade da fosfofruto-

quinase e da via de Rapoport-Luebering (na DPG mutase) – em consequência de aumentos ligeiros do pH, aliás demonstrados, por exemplo, nas anemias (27).

Exigências teciduais em oxigénio

É grande a controvérsia sobre a PO_2 existente, em condições normais, nos diversos tipos celulares do organismo (6). O assunto tem sido estudado em inúmeros sistemas experimentais, sob condições metabólicas nem sempre comparáveis. Pretende-se esclarecer o mecanismo que preserva da hipoxia diversos tecidos corporais, relacionado-o com as condições funcionais da microcirculação.

Em cada instante, a PO_2 intracelular resulta a interacção dos seguintes parâmetros:

- transporte;
- difusão;
- reacções metabólicas.

A corrente sanguínea conduz o oxigénio aos capilares nas condições já especificadas. Segue-se a difusão local, em que não parece existirem barreiras muito importantes ao nível das paredes vasculares (6). A cinética de difusão é condicionada pela PO_2 capilar, PO_2 celular e variáveis específicas da rede capilar funcional (5). Ao atingir as mitocôndrias, o oxigénio reage primeiramente com o hidrogénio, assegurando a remoção contínua dos electrões, encaminhados até à oxidase terminal da cadeia respiratória. A utilização mitocondrial do O_2 é independente da PO_2 celular desde que esta seja superior a 1 mm Hg. Abaixo deste valor o consumo de O_2 condiciona-se à PO_2 celular, por si insuficiente para evitar a hipoxia a curto prazo.

Admite-se que as células disponham de um mecanismo que as proteja da hipoxia, baseado na manutenção dos níveis internos de PO_2 superiores a 1 mm Hg.

Essa margem de segurança é, dentro de certos limites, independente do fluxo sanguíneo e da cinética de difusão.

Observações várias no músculo estriado em repouso indicam que a PO_2 intracelular oscila entre 5 e 10 mm Hg, o que representa um excesso de 4 a 9 mm Hg relativamente ao nível crítico da PO_2 , antes que o músculo se

torne hipóxico (28). Desde que a PO_2 capilar não diminua mais que aquele excesso – como sucede, por exemplo, em situações de hipoxemia arterial ou redução de fluxo sanguíneo – é possível que a PO_2 intracelular não desça além de 1 mm Hg; o fornecimento do oxigénio aos tecidos permanecerá normal.

O factor de segurança celular baseia-se na manutenção do equilíbrio entre as disponibilidades em O_2 e a PO_2 intracelular, desde que esta permaneça superior a 1 mm Hg. Contudo, quando a PO_2 capilar diminui acentuadamente, em consequência de maiores exigências em PO_2 para as funções metabólicas celulares, a margem de segurança em O_2 perde grande parte da sua utilidade. Nestes casos, entram em acção mecanismos que, ao modificarem a perfusão da rede capilar, condicionam os parâmetros de difusão. Os tecidos passam a dispor da quantidade de oxigénio necessário, através do aumento do número de capilares abertos à circulação, a distâncias adequadas de difusão.

A consequente normalização das diferenças em PO_2 capilares/células assegura a difusão do O_2 adequado à manutenção dos níveis intracelulares de PO_2 que evitam a hipoxia.

Desde que a PO_2 venosa não seja inferior a 10 mm Hg, não parece alterar-se o fornecimento de oxigénio ao músculo estriado (29). Entretanto, a PO_2 da célula muscular é pouco influenciada pela redução dos níveis da PO_2 arterial e venosa, respectivamente, para 40 e 20 mm Hg (28). Concluiu-se que a regulação da oxigenação tecidual requeria a participação activa dos controlos específicos.

Há que contar ainda com a modulação da resistência arteriolar nas situações, extremas, em que a perfusão total da rede capilar não basta para satisfazer as necessidades celulares em PO_2 .

Tudo indica, portanto, que a manutenção da PO_2 intracelular acima de valores críticos dispõe de três mecanismos reguladores eficazes, que actuam de acordo com as condições metabólicas locais e que se baseiam em:

- mitocondrias;
- esfíncteres pré-capilares;
- arteríolas.

As relações existentes entre a PO_2 intracelular e o comportamento das arteríolas e dos esfíncteres pré-capilares assentam na premissa de que a sensibilidade da microcirculação aos agentes vasoactivos é inversamente proporcional ao raio dos vasos (30).

O mecanismo de regulação centrado nos esfíncteres pré-capilares parece ser mais sensível às alterações da PO_2 intracelular do que o das arteríolas (31).

Durante a contracção muscular, em que é requerido um aumento substancial do consumo de ATP, desencadeiam-se reacções sucessivas que visam o reequilíbrio metabólico e energético e obstam à hipoxia celular. A diminuição dos níveis celulares de ATP acompanha-se da subida dos seus produtos de hidrólise, ADP e fosfato inorgânico. Ainda que o declínio de ATP seja parcialmente compensado pelas disponibilidades celulares em creatina-fosfato, compete sobretudo à glicose e à fosforilação oxidativa mitocondrial a reposição dos fosfatos de alta energia dispendidos. A presença de concentrações elevadas de ADP e fosfatos inorgânicos estimula a respiração mitocondrial e, através da fosfofrutoquinase, a actividade glicolítica. Entretanto, a baixa da relação intracelular ATP/ADP e a diminuição do teor em NADH (por ter aumentado a respiração mitocondrial) activam a desidrogenase isocítica e a citrato sintase, ambos enzimas influentes no ciclo de Krebs.

Em conjunto, todos esses efeitos pretendem elevar a produção de ATP.

Contudo, a aceleração da actividade fosforilativa mitocondrial acompanha-se de maior consumo de O_2 , o que, inicialmente, supera as quantidades recebidas dos capilares. Em vista disso, baixa a PO_2 celular que, dentro de certos limites, é rapidamente compensada pelo aumento local do fluxo sanguíneo e densidade capilar, em resposta à dilatação dos esfíncteres pré-capilares e arteríolas. A vasodilatação arteriolar provoca uma hiperemia funcional, que eleva a quantidade de O_2 disponível nos capilares; a abertura da rede capilar favorece, ao nível das células, a difusão do oxigénio transportado pelo sangue. As células acabam por receber o excesso de O_2 requerido para as respectivas funções (5,31).

Verificou-se ainda que a contribuição das arteríolas e esfíncteres pré-capilares no controlo das alterações da oxigenação tecidual é condicionada pela PO_2 venosa (31,32).

Quando a PO_2 venosa é normal (40 mm Hg) ou superior, o fornecimento de oxigénio às células carenciadas mantém-se à custa das diferenças artério-venosas; a extracção do oxigénio do sangue aumenta sem participação significativa dos vasos de resistência, a menos que a saturação arterial em O_2 diminua acentuadamente. Isto é, o sistema de trocas capilares assegura, naquelas condições, a satisfação das necessidades celulares em O_2 . Este fenómeno justifica-se pela maior sensibilidade dos esfíncteres pré-capilares às varia-

ções de PO_2 tecidual, relativamente às arteríolas. Basta elevar-se a extracção de O_2 do sangue para suprir as necessidades celulares em oxigénio. Em contrapartida, quando a PO_2 venosa desce do normal, predomina a acção das arteríolas, com aumento do fluxo sanguíneo local, secundado pela extracção de O_2 . A contribuição da capacidade de trocas capilares é menor, devido, provavelmente, a muitos dos capilares estarem já perfundidos a níveis da PO_2 venosas sub-normais. Por consequência, quando a tensão de oxigénio venoso é baixa, predominam os mecanismos de adaptação baseados na autorregulação do fluxo sanguíneo e hiperemia funcional. Estes factos sugerem que o centro da regulação microvascular da oxigenação tecidual se desloca dos esfíncteres pré-capilares (mais sensíveis) para os vasos de resistência que condicionam o fluxo sanguíneo local, sempre que a PO_2 venosa baixa (31).

Ambos os mecanismos de compensação devem actuar em conjunto na manutenção da PO_2 tecidual acima de níveis críticos, na generalidade das situações. Contudo, sendo a PO_2 venosa habitualmente elevada, as exigências metabólicas em PO_2 são sobretudo satisfeitas por modificações rápidas da extracção do O_2 , através do controlo pelos esfíncteres pré-capilares (Fig. 5).

Na sua essência, o esquema descrito fundamenta a teoria do controlo metabólico da circulação local (5,31) mas não especifica a natureza química dos agentes que interferem com o tónus microvascular.

Mecanismo de controlo da microcirculação

Parece desejável, pelo que se viu, que as necessidades do metabolismo aeróbico celular sejam integralmente satisfeitas pela quantidade de oxigénio fornecido. Ainda que não esteja esclarecido o mecanismo fisiológico de que depende esse equilíbrio, é de prever que o controlo da relação fluxo sanguíneo capilar/metabolismo celular seja, no contexto da autorregulação da microcirculação, bastante importante para o metabolismo e funções celulares. As possíveis alterações daquele equilíbrio desencadeariam, através de estímulos fisiológicos com origem celular, as respostas adequadas da microcirculação, tendentes a normalizar o sistema (11).

Entre os parâmetros fisiológicos que reúnem maiores possibilidades de actuação como sinais condicionantes da microcirculação, salientam-se:

FACTORES INTERVENIENTES NO CONTROLO DA MICROCIRCULAÇÃO
E DA OXIGENAÇÃO TECIDUAL

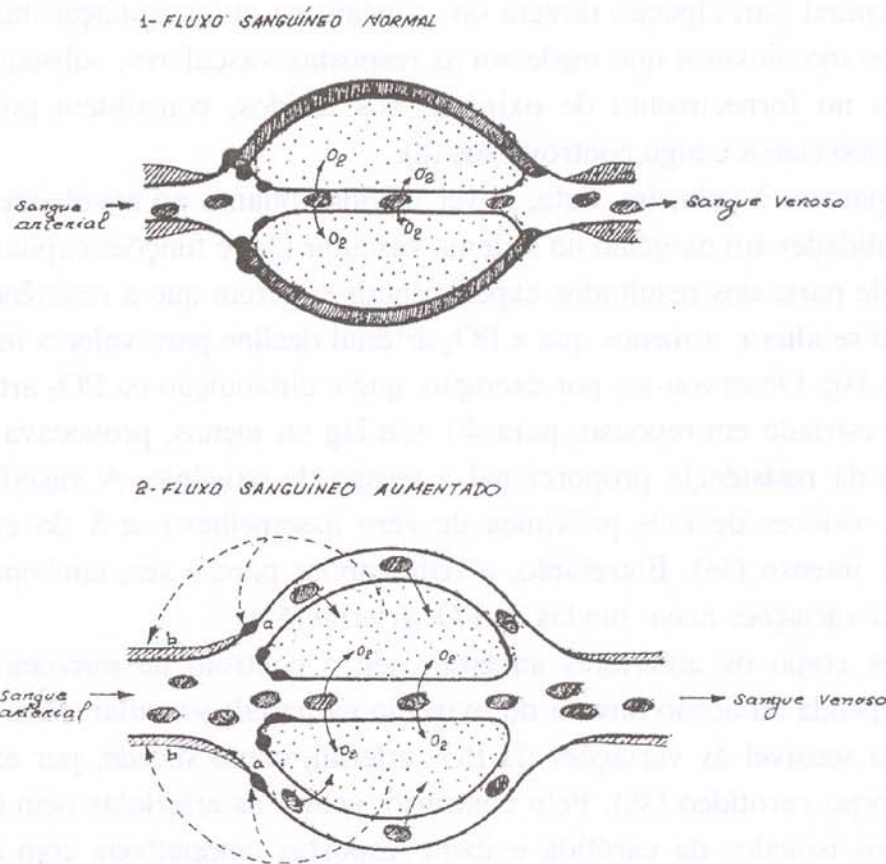


Fig. 5 – Diagrama representativo do controlo da intermitência capilar para o fluxo sanguíneo. Havendo equilíbrio entre as disponibilidades do oxigénio em circulação e as necessidades do metabolismo aeróbico celular (1), o fluxo sanguíneo que irriga os tecidos mantém-se inalterável. Quando aumentam as exigências metabólicas em oxigénio ou diminui o seu fornecimento pelo sangue capilar, geram-se estímulos nos tecidos em hipoxia que, incidindo nos esfínteres pré-capilares ou meta-arteriolas, aumentam o fluxo sanguíneo local.

- PO_2 celular e extracelular;
- metabolitos celulares vasoactivos.

É admissível que o oxigénio capilar ou intersticial actue directamente no tónus microvascular. Os proponentes desta hipótese (33) referem que as condições favoráveis ao declínio da PO_2 capilar ou intersticial provocam uma vasodilatação vascular que visa normalizar a oxigenação tecidual. Quando a PO_2 tecidual ultrapassa as necessidades metabólicas, diminui, em consequência da vasoconstricção local, a PO_2 intersticial.

A eventual participação directa do oxigénio na autorregulação microvascular e os mecanismos que medeiam as respostas vasculares, subsequentes a variações no fornecimento de oxigénio aos tecidos, constituem problemas ainda pouco claros e algo controversos (6).

Não parece, à primeira vista, haver dúvidas quanto ao envolvimento das disponibilidades em oxigénio no sistema vascular (34) e funções capilares (35).

Grande parte dos resultados experimentais sugerem que a resistência vascular não se altera, a menos que a PO_2 arterial decline para valores inferiores a 50 mm Hg. Observou-se, por exemplo, que a diminuição da PO_2 arterial no músculo estriado em repouso, para 40 mm Hg ou menos, provocava um decréscimo da resistência proporcional à tensão de oxigénio. A vasodilatação obtida a valores de PO_2 próximos de zero assemelhava-se à do exercício muscular intenso (36). Entretanto, a rede capilar parece ser, também, muito sensível a variações acen- tuadas da PO_2 arterial (37).

Factos como os anteriores sugerem que o controlo da microcirculação talvez dependa da acção directa do oxigénio na parede vascular. Esta teria de ser muito sensível às variações da PO_2 arterial, como sucede, por exemplo, com o corpo carotídeo (38). Pelo contrário, nem a as arteríolas nem os músculos lisos isolados da carótida exibem respostas compatíveis com a acção directa do oxigénio no controlo do fluxo sanguíneo (39).

Note-se que a hipoxia tecidual surge a níveis da PO_2 intracelulares inferiores a 1 mm Hg. Existe, normalmente, um pequeno excesso de PO_2 intracelular que evita o bloqueio da respiração mitocondrial e dispensa o recurso a alterações do fluxo sanguíneo ou dos parâmetros de difusão (28). Por outro lado, a semelhança da PO_2 intravascular e perivascular, registada em sectores ao mesmo nível, salienta a insignificância aparente do consumo de oxigénio pelos músculos das arteríolas que, por si, não devem constituir barreiras importantes à difusão do oxigénio, do leito vascular para os tecidos adjacentes (40).

O declínio da PO_2 perivascular ao longo do trajecto arteriolar, com correspondente diminuição progressiva da saturação da hemoglobina em oxigénio, demonstra que o oxigénio recebido pelos tecidos é difundido da hemoglobina circulante, quase sem perdas, através das paredes vasculares. Conclui-se, de modo análogo, que a PO_2 intravascular reflecte, em cada ponto do trajecto arterial, a importância relativa da difusão e da saturação da hemoglobina em oxigénio (41).

A velocidade do fluxo sanguíneo arteriolar, bem como a actividade meta-

bólica dos tecidos envolventes, repercutem-se, certamente, no declínio da PO_2 arteriolar. Este, por sua vez, deverá reflectir-se na quantidade de O_2 fornecido à musculatura vascular. Tudo depende da sensibilidade das células musculares dos vasos às variações da PO_2 habituais no trajecto vascular. Se, como parece suceder em vasos isolados (39), o metabolismo energético da musculatura das artérias for comparável, nas suas exigências, à dos tecidos aeróbicos, é de excluir que o oxigénio possa, em situações normais, influenciar directamente os mecanismos reguladores da microcirculação. Os estudos de Duling e Pittman (6) foram, a este respeito, bastante esclarecedores. Com efeito, o oxigénio não exercia qualquer efeito directamente nas arteríolas dos músculos estriados em repouso, desde que o fluxo sanguíneo fosse constante. Em contrapartida, a hiperemia reactiva pós-oclusiva traduziria a vasodilatação consequente à falta de oxigénio nos músculos lisos da parede vascular.

Deixa-se em aberto a possibilidade de comportamentos diferentes ao nível de tecidos ainda não estudados.

Há que esclarecer, sobretudo, o consumo real e os níveis críticos de oxigénio para a parede vascular, relativamente às células parenquimatosas de diversos tipos de tecidos intactos. Mesmo admitindo que as células musculares lisas dos microvasos sejam directamente sensibilizadas pelo oxigénio, não se sabe se o efeito resultante é desencadeado a partir do tecido ou da própria parede vascular.

São inúmeras as observações que condicionam grande parte do controlo da microcirculação ao metabolismo das células parenquimatosas. Os gradientes de O_2 observados ao longo dos microvasos influenciariam apenas as trocas de oxigénio para os tecidos, dependendo o controlo da microcirculação de substâncias vasoactivas originadas nos tecidos (5). O oxigénio recebido interviria, inicialmente, na respiração mitocondrial, resultando a adaptação microvascular das necessidades metabólicas teciduais. Guyton e cols. (42) observaram, efectivamente, correlações importantes entre as exigências teciduais em oxigénio e o controlo do fluxo sanguíneo na microcirculação. O fornecimento de oxigénio aos tecidos estaria sujeito a um mecanismo retro-activo, de origem metabólica, com efeitos no calibre das arteríolas e esfíncteres pré-capilares.

Deste modo, seriam de esperar alterações no fluxo sanguíneo local, quando diminuísse a capacidade de transporte ou a libertação do oxigénio para os tecidos, ou aumentassem as exigências periféricas em oxigénio.

Este problema tem sido muito estudado a propósito da hiperemia funcional do músculo estriado. Os resultados obtidos são francamente favoráveis ao envolvimento de factores metabólicos na origem da vasodilatação dos músculos estriados em contracção. O sangue venoso, efluente do músculo em exercício ou em repouso, tem propriedades vasodilatadoras, inexistentes no sangue arterial (36).

Entre os agentes vasoactivos aparentemente responsáveis pela hiperemia funcional e, talvez, pelo controlo geral da microcirculação, salientam-se, além do oxigénio, os seguintes:

- hidrogénio;
- potássio;
- osmolalidade;
- nucleótidos adenílicos e adenosina.

A contracção muscular moderada ou intensa conduz à acumulação de prótons no sangue venoso (43) e tecidos (44). A perfusão do músculo estriado em repouso por sangue venoso acompanha-se de vasodilatação periférica, em contraste com o sangue arterial, excepto quando acidificado (45). O controlo da resistência vascular estaria assim resolvido, se não houvesse factos discordantes. Com efeito, a estimulação da contractibilidade muscular eleva a concentração tecidual de H^+ quando o fluxo sanguíneo está já aumentado (44).

Por outro lado, não parece haver correlação entre a diminuição da resistência vascular e o declínio do pH no sangue venoso, após o exercício muscular violento (46).

A actividade vasodilatadora do sangue venoso, efluente dos músculos em exercício normal, não é anulada apenas pela correcção do pH mas quando se normaliza, também, a PO_2 .

O potássio, que sai das células dos músculos estriados despolarizados, parece contribuir mais para o início do que para a manutenção da hiperemia funcional.

A concentração de potássio eleva-se no sangue venoso e diminui no tecido muscular durante a contracção (43).

Contudo, a hiperemia permanece mesmo depois da normalização dos níveis de potássio em ambos os tecidos (46).

Ainda que o potássio se comporte experimentalmente como um agente vasodilatador, verifica-se que o aumento do fluxo sanguíneo, consequente à contracção muscular, é muito superior ao desenvolvido por aquele elemento.

A contracção muscular provoca um aumento da osmolalidade do sangue venoso efluente (47). Como a infusão arterial de soluções hiperosmóticas no músculo em repouso diminui a resistência vascular, admitiu-se que a hiperosmolalidade pudesse estimular a vasodilatação. Tal como para o potássio, as elevações de osmolalidade acompanham a duração da hiperemia funcional, além de aparecerem tardiamente (em relação ao aumento do fluxo sanguíneo) e não serem proporcionais ao efeito vascular (48).

A hipótese do controlo da microcirculação pelos nucleótidos adenílicos ou pela adenosina é das que se apresentam com maior viabilidade.

Para Berne e cols., (49), os produtos da hidrólise celular do ATP – sobretudo a adenosina – libertados no espaço extracelular, funcionariam como estímulos adaptativos do tónus microvascular.

Observou-se no exercício muscular e, sobretudo, em condições de isquemia, que a concentração tecidual do ATP declinava a par do aumento local de ADP, AMP, IMP, adenosina, inosina e hipoxantina.

Em situações de desequilíbrio intracelular da relação O_2 fornecido/ O_2 necessário, a adenosina deslocar-se-ia para o espaço intersticial e, daqui, para as arteríolas e esfíncteres pré-capilares, provocando-lhes o relaxamento. O aumento consequente do fluxo sanguíneo poderia, então, satisfazer as necessidades celulares. Não só a adenosina como também o ATP revelaram-se vasodilatadores potentes quando perfundidos no sangue arterial (26).

A possibilidade de se abolir o efeito vasodilatador do sangue venoso através da correlação do pH e do PO_2 não se coaduna com a eventual importância do efeito produzido pelos nucleótidos adenílicos (ou derivados) na microcirculação. Os resultados obtidos sobre a natureza química de factores metabólicos que participam no controlo da microcirculação não são concludentes. Não parece haver um factor que, isolado, seja efectivamente responsável pela resposta vascular. Por outro lado, o efeito vascular desenvolvido não acompanha, na generalidade, o período de actuação do estímulo, não se excluindo ainda a acção directa do oxigénio na parede vascular.

Se as conclusões relativas à hiperemia forem extrapoláveis à generalidade dos tecidos corporais, resta admitir que a regulação da microcirculação, pelo mecanismo retroactivo de origem celular, recorre ao concurso de diversas substâncias com períodos variáveis de actuação.

BIBLIOGRAFIA

1. BURTON A.C. "Physiologie et Biophysique de la Circulation.", Masson et Cie, Paris, 1974.
2. FINCH C.A., LENFANT C. Oxygen transport in man. *N. Engl. J. Med.*, 286: 407, 1972.
3. DUBOIS A.B. The nature of dynamics of cellular carbon dioxide. In "Carbon Dioxide and Metabolic Regulation.", G. Nahas e K. E. Schaefer (eds), Springer-Verlag, New York, 1974, pág. 24.
4. ZWEIFACH B.W. General principles governing the behavior of the microcirculation. *Amer. J. Med.*, 23: 684, 1957.
5. GRANGER H.J., GOODMAN A.H., COOK B.H. Metabolic models of microcirculatory regulation. *Fed. Proc.*, 34: 2025, 1975.
6. DULING B.R., PITTMAN R.N. Oxygen tension: dependent or independent variable in local control of blood flow? *Fed. Proc.*, 34: 2012, 1975.
7. JOHNSON P.C., HENRICH H.A. Metabolic and myogenic factors in local regulation of the microcirculation. *Fed. Proc.*, 34: 2020, 1975.
8. JOHNSON P.C. Review of previous studies and current theories of autorregulation. *Circo Res. (supl. 1)* 15: 2, 1964.
9. MELLANDER S., JOHANSSON B. Control of resistance exchange and capacitance functions in the peripheral circulation. *Pharmacol. Rev.*, 20: 117, 1968.
10. GORE R.W., BOHLEN H.G. Pressure regulation in the microcirculation. *Fed. Proc.*, 34: 2031, 1975.
11. CRONE C. The autorregulation of the microcirculation. In "Diabetic Microangiopathy.", J. Ditzel e J. E. Poulsen (eds), A. Lindgren & Söner A. B., Molndal, 1975, pág. 15.
12. BOHR D.F. Vascular smooth muscle updated. *Circ. Res.*, 32: 665, 1973.
13. MELDON J.H., GARBY L. -The blood oxygen transport system. In "Diabetic Microangiopathy.", J. Ditzel e J. E. Poulsen (eds), A. Lindgren & Söner, A. B., Molndal, 1975, pág. 19.
14. BALDWIN J.M. A model of co-operative oxygen binding to haemoglobin. *Brit. Med. Bull.*, 32: 213, 1976.
15. RANNEY H.M. Transport functions of the erythrocyte. In "Hematology.", W. J. Williams, E. Beutler, A. J. Erslev, e R. W. Rundles (eds), McGraw-Hill Book Co, New York, 1972, pág. 144.
16. KILMARTIN J.V. Interaction of haemoglobin with protons, CO₂ and 2,3-diphosphoglycerate. *Brit. Med. Bull.*, 32: 209, 1976.
17. DUHM J. 2,3-diphosphoglycerate metabolism of erythrocytes and oxygen transport function of blood. In "Erythrocytes, Thrombocytes, Leucocytes". E. Gerlach, K. Moser, E. Deutsch e W. Williams (eds) Georg Thieme Publ., Stuttgart, 1973, pág. 149.
18. BELLINGHAM A.J., GRIMES A.J. Red cell 2,3-diphosphoglycerate. *Brit. J Haematol*, 25: 555, 1973.

19. POLLOCK A., COTTER K.P. Oxygen transport in anaemia. *Brit. J. Haematol*, 25: 631, 1973.
20. PERUTZ M.F. Structure and mechanisms of haemoglobin. *Brit. Med. Bull.*, 32: 195, 1976.
21. BEUTLER E. 2,3-diphosphoglycerate affects enzymes of glucose metabolism in red blood cells. *Nature New Biol.*, 232: 20, 1971.
22. TORRANCE J., JACOBS P., RESTREPO A., ESCHBACH J., LENFANT C., FINCH C.A. Intraerythrocytic adaptation to anemia. *N. Engl. J. Med.*, 283: 165, 1970.
23. BAUER C. Antagonistic influence of CO₂ and 2,3-diphosphoglycerate on the Bohr effect of human hemoglobin. *Life Sci.* (11), 8: 1041, 1969.
24. SIGGAARD-ANDERSEN O. Oxygen-linked hydrogen ion binding of human hemoglobin. Effects of carbon dioxide and 2,3-diphosphoglycerate. I-Studies on erythrolysate. *Scand J. Clin. Lab. Invest.*, 27: 351, 1971.
25. DUHM J. Influence of 2,3-diphosphoglycerate on the binding properties of human blood. Role of the red cell membrane. *Pflügers Archiv.*, 363: 61, 1976.
26. LUZ P.L., CAVANILLES J.M., MICHAELS S., WEIL M.H., SHUBIN H. Oxygen delivery, anoxic metabolism and hemoglobin-oxygen affinity (P₅₀) in patients with acute myocardial infarction and shock. *Amer. J. Cardiol.*, 36: 148, 1975.
27. LICHTMAN M.A., MURPHY M.S., WHITBECK A.A., KEARNEY E.A. Oxygen binding to hemoglobin in subjects with hypoproliferative anaemia with and without chronic renal disease: role of pH. *Brit. J. Haematol.*, 27: 439, 1974.
28. WHALEN W.J., NAIR P. Intracellular PO₂ and its regulation in resting skeletal muscle of the guinea pig. *Circ. Res.*, 21: 251, 1967.
29. STAINSBY W.N., OTIS A.B. Blood flow, blood oxygen tension, oxygen uptake and oxygen transport in skeletal muscle. *Amer. J. Physiol.*, 206: 858, 1964.
30. ALTURA B.M. Chemical and hormonal regulation of blood flow through the capillary sphincter. *Microvasc. Res.*, 3: 361, 1971.
31. GRANGER H.J., GOODMAN A.H., GRANGER D.N. Role of resistance and exchanged vessels in local microvascular control of skeletal muscle oxygenation in the dog. *Circ. Res.*, 38: 379, 1976.
32. CARTER R.O., RAPELE C.E. Effect of local cooling on conductance and autorregulatory response of canine skeletal muscle vasculature. *Fed. Proc.*, 29: 259, 1970.
33. DETAR R., BOHR D.F. Oxygen and vascular smooth muscle contraction. *Amer. J. Physiol.*, 214: 241, 1968.
34. COSTIN J.C., SKINNER N.S. Effects of systemic hypoxemia on vascular resistance in dog. skeletal muscle *Amer. J. Physiol.*, 218: 886, 1970.
35. HUTCHINS P.M., BOND R.F., GREEN H.D. Participation of oxygen in the local control of skeletal muscle microvasculature. *Circ. Res.*, 34: 85, 1974.
36. HADDY F.J., SCOTT J.B. Metabolically linked vasoactive chemicals in local regulation of blood flow. *Physiol. Rev.*, 48: 688, 1968.
37. BOURDEAU-MARTINI J., ODOROFF C., HONIG C.R. Dual effect of oxygen on magnitude and uniformity of coronary inter-capillary distance. *Amer. J. Physiol.*, 226: 800, 1974.

38. MILLS E., JOBSIS F.F. Mitochondrial respiratory chain of carotid body and chemo-receptor response to changes in oxygen tension *J. Neurophysiol.*, 35: 405, 1972.
39. PITTMAN R.N., DULING B.R. Oxygen sensitivity of vascular smooth muscle I. in vitro studies. *Microvasc Res.*, 6: 202, 1973.
40. DULING B.R., BERNE R.M. Longitudinal gradients in periarteriolar oxygen tension. A possible mechanism for the participation of oxygen in local regulation of blood flow. *Circ. Res.*, 27: 669, 1970.
41. PITTMAN R.N., DULING B.R. Measurement of percent oxyhemoglobin in the microvasculature. *J. Appl. Physiol.*, 38: 321, 1975.
42. GUYTON A.C., ROSS J.M., CARRIER O., WALKER J.R. Evidence for tissue oxygen demand as the major factor causing autorregulation. *Circ. Res. (supl. 1)* 14 e 15: 1-60 -1-68, 1964.
43. HADDY F.J., SCOTT J.B. Metabolic factor in peripheral circulatory regulation. *Fed. Proc.*, 34: 2006, 1975.
44. GEBERT G., FRIEDMAN S.M. An implantable glass electrode for pH measurement in working skeletal muscle *J. Appl. Physiol.*, 34: 122, 1973.
45. KONTOS H.A. Role of hypercapnic acidosis in local regulation of blood flow in skeletal muscle. *Circ. Res. (supl. 1)* 28 e 29: 1, 98, 1971.
46. RADAWSKI D., HOPPE W., UNDERWOOD R., HADDY F.J. Role of vasoactive substances in active hyperemia in skeletal muscle. *Fed. Proc.*, 31: 379, 1972.
47. MELLANDER S., JOHANSSON B. GRAY S., JONSSON O., LUNDVALL J., LJUNG B. The effects of hyperosmolarity on intact and isolated vascular smooth muscle. Possible role in exercise hyperemia. *Angiologica*, 4: 310, 1967.
48. SCOTT J.B., RUDKO M., RADAWSKI D., HADDY F.J. Role of osmolarity, K^+ , H^+ , Mg^{++} and O_2 in local blood flow regulation. *Am. J. Physiol.*, 218: 338, 1970.
49. BERNE R.M., RUBIO R., DOBSON J.G., CURNISH R.R. Adenosine and adenine nucleotides as possible mediators of cardiac and skeletal muscle blood flow regulation *Circ. Res. (supl. 1)* 28 e 29: 1-115, 1971.