

# MODULADORES DA CURVA DE DISSOCIAÇÃO OXIGÊNIO-HEMOGLOBINA E VENTILAÇÃO DURANTE O EXERCÍCIO

## *Laboratório de Fisiologia Respiratória Comparada*

Prof. Dr. Mogens Lesner Glass

Adriana P. Sanches Schiaveto

Jalile Amin Naves Ventura

Humberto Giusti

Marcelo dos Santos Fernandes

Mirian Bassi

## INTRODUÇÃO

### **O oxigênio é transportado no sangue sob duas formas:**

**1) Dissolvido no plasma:** Quando o oxigênio entra no sangue, ele imediatamente se dissolve no plasma e no líquido intracelular eritrocitário. Segundo a lei de Henry, a quantidade dissolvida de oxigênio é proporcional à pressão parcial deste gás. Sabendo que no sangue arterial normal a 37°C, com uma PaO<sub>2</sub> de aproximadamente 100 mmHg, existe cerca de 0,3 ml/dl de oxigênio dissolvido:

$$\text{O}_2 \text{ dissolvido ( ml/dl )} = \text{PO}_2 \times 0,003$$

**2) Combinado com a hemoglobina:** A maioria do oxigênio sanguíneo é transportado em combinação química com a hemoglobina nos eritrócitos. A hemoglobina é uma proteína conjugada composta por quatro cadeias polipeptídicas (*globinas*), sendo duas alfas e duas betas, cada uma combinada com um complexo porfirina denominado *heme*. As quatro cadeias polipeptídicas da hemoglobina formam um espiral em conjunto numa estrutura semelhante a uma bola, forma que determina a sua afinidade pelo oxigênio. Cada complexo heme contém 1 íon ferroso (Fe<sup>++</sup>) localizado centralmente, que estabelece ligação com uma molécula de O<sub>2</sub>. Dessa forma, cada molécula de hemoglobina pode carregar até 4 moléculas de oxigênio.

Um grama de hemoglobina é capaz de se combinar com 1,39 ml O<sub>2</sub>. Como o sangue normal possui cerca de 15g de Hb/100dl, a capacidade de O<sub>2</sub> no sangue (transportado dessa forma) será cerca de 20,8 ml de O<sub>2</sub>/100dl de sangue.

### **Conteúdo Total de O<sub>2</sub> do sangue**

O conteúdo total de oxigênio no sangue é igual a soma de O<sub>2</sub> dissolvido e do quimicamente combinado com a hemoglobina. O cálculo do conteúdo total poderá ser feito com a seguinte equação:

$$[O_2]_{\text{tot}} = (0,003 \times PO_2) + ([Hb]_{\text{tot}} \times 1,39 \times \text{SatO}_2/100)$$

onde:  $[O_2]_{\text{tot}}$  é o conteúdo total de O<sub>2</sub>;

PO<sub>2</sub> é a pressão parcial de O<sub>2</sub> no sangue;

$[Hb]_{\text{tot}}$  é o conteúdo total de hemoglobina em g/dl;

SatO<sub>2</sub> é a saturação da hemoglobina com O<sub>2</sub>;

Assim, uma amostra de sangue arterial normal com uma PO<sub>2</sub> de 100 mmHg, contendo 15 g/dl de hemoglobina 97% saturada, terá o seguinte conteúdo de oxigênio:

$$CaO_2 = (0,003 \times 100) + (15 \times 1,34 \times 0,97)$$

$$CaO_2 = (0,3) + (19,5)$$

$$CaO_2 = 19,8 \text{ ml/dl}$$

### **Transporte de CO<sub>2</sub>**

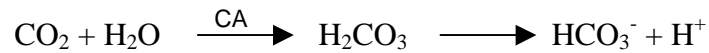
Aproximadamente 45 a 55 ml/dl de CO<sub>2</sub> são normalmente transportados no sangue sob três formas:

**1) Dissolvidos numa solução física:** O CO<sub>2</sub> produzido pelos tecidos dissolve-se no plasma e no líquido intracelular dos eritrócitos. No entanto, ao contrário do O<sub>2</sub>, o CO<sub>2</sub> dissolvido possui um papel importante no transporte, sendo responsável por aproximadamente 10% do total liberado nos pulmões. Isso é decorrente da alta solubilidade plasmática do CO<sub>2</sub>.

**2) Quimicamente combinado com proteínas:** Os compostos formados pela combinação do CO<sub>2</sub> com proteínas no sangue são denominados compostos carbamino. A reação entre o CO<sub>2</sub> e a globina (carbamino-hemoglobina) ocorre rapidamente sem ação enzimática. A Hb reduzida, ou seja, sem moléculas de O<sub>2</sub> liga-se mais facilmente ao CO<sub>2</sub> do que a hemoglobina oxigenada, assim o

descarregamento do O<sub>2</sub> nos capilares periféricos facilita o carregamento de CO<sub>2</sub> enquanto a oxigenação no pulmão exerce efeito oposto.

**3) Na forma de bicarbonato:** cerca de 80% do CO<sub>2</sub> sanguíneo é transportado como bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>).



A reação entre o CO<sub>2</sub> e a H<sub>2</sub>O é rapidamente catalisada dentro do eritrócito devido à presença da enzima anidrase carbônica (CA). O ácido carbônico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) resultante da reação se dissocia em hidrogênio (H<sup>+</sup>) e bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>). O HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> é transportado, através de um trocador de membrana HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>/Cl<sup>-</sup> para fora do eritrócito e o H<sup>+</sup> liga-se a hemoglobina presente no capilar.

### **Saturação da Hemoglobina (SaO<sub>2</sub>)**

A saturação é uma medida da proporção de hemoglobina disponível que está realmente transportando oxigênio, e é calculada através da relação entre a HbO<sub>2</sub> (hemoglobina ligada ao O<sub>2</sub>) e a quantidade total de hemoglobina sanguínea, sendo expressa em porcentagem:

$$\text{SaO}_2 (\%) = \frac{[\text{HbO}_2]}{[\text{Hb}] + [\text{HbO}_2]} \times 100 \%$$

onde: [HbO<sub>2</sub>] é o conteúdo de oxiemoglobina;

[Hb] é o conteúdo de hemoglobina desoxigenada;

[Hb] + [HbO<sub>2</sub>] é o conteúdo total de hemoglobina.

Assim se houver uma Hb total de 15g/dl no sangue (Hb + HbO<sub>2</sub>), sendo que há 7,5 g/dl de HbO<sub>2</sub>, a SaO<sub>2</sub> é calculada da seguinte maneira:

$$\text{SaO}_2 = \frac{7,5}{15} \times 100 = 50 \%$$

Nesse exemplo, a hemoglobina é considerada como sendo 50% saturada. Isso significa que somente metade da hemoglobina disponível no sangue está realmente transportando O<sub>2</sub>, o restante permanece desoxigenado.

As variações na afinidade da Hb pelo oxigênio é quantificada em uma medida denominada  $P_{50}$ . A  $P_{50}$  é a pressão parcial do oxigênio na qual a Hb se encontra 50% saturada, padronizada a um nível de pH de 7,40. A  $P_{50}$  normal é de aproximadamente 27 mmHg. Condições que causam uma diminuição da afinidade da Hb pelo oxigênio (um desvio da curva da  $HbO_2$  para a direita) aumentam a  $P_{50}$  acima do seu valor normal. Condições associadas com um aumento da afinidade (um desvio da curva da  $HbO_2$  para a esquerda) diminuem a  $P_{50}$  abaixo do seu valor normal.

### ***Curva de dissociação $HbO_2$***

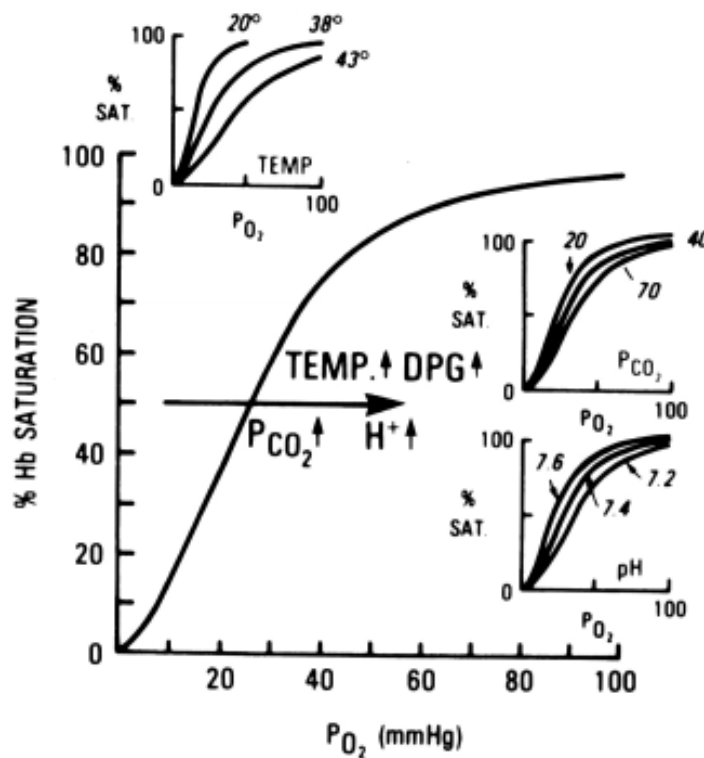
A relação entre a saturação da hemoglobina e a pressão de  $O_2$  no sangue é demonstrada através da curva de dissociação  $HbO_2$  (Fig. 01). A saturação da hemoglobina com o oxigênio varia com as alterações da  $PO_2$ . A forma sigmóide da curva reflete as interações entre as quatro cadeias dessa molécula e o oxigênio. As partes inferior e superior da curva, relativamente achatadas, representam as faixas nas quais a ligação entre o  $O_2$  e a hemoglobina são mais difíceis (pequenas alterações da  $PaO_2$  têm pouco efeito sobre a  $SaO_2$ ), enquanto que a parte central, com uma inclinação mais acentuada, representa a faixa na qual as ligações estão facilitadas (pequenas alterações da  $PaO_2$  agora refletem grande efeito na  $SaO_2$ ).

### ***Fatores que afetam a posição da curva (carga e descarga de $O_2$ )***

A posição da curva depende de vários moduladores. Entre os mais importantes estão: pH sanguíneo, temperatura corpórea, concentração de certos fosfatos orgânicos nos eritrócitos (2,3 Difosfoglicerato) e a combinação química da hemoglobina com o monóxido de carbono. Abordaremos neste contexto os efeitos do pH sanguíneo e da temperatura sobre a posição da curva Hb- $O_2$ .

Quando o pH sanguíneo cai, a curva da  $HbO_2$  é desviada para a direita, a saturação de Hb para uma determinada  $PaO_2$  fica reduzida (diminuição da afinidade da Hb pelo oxigênio). Ao contrário, quando o pH sanguíneo aumenta a curva desloca-se para a esquerda, a saturação da Hb para uma determinada  $PaO_2$  aumenta (aumento da afinidade da Hb pelo oxigênio). Assim podemos afirmar que quando o sangue nos capilares dos tecidos sistêmicos recolhe  $CO_2$ , seu pH cai de 7,40 para cerca de 7,37 causando um desvio da curva da  $HbO_2$  para a direita, diminuindo a afinidade da Hb pelo oxigênio, dessa forma ajudando a sua descarga para os tecidos. De forma

inversa, quando o sangue venoso retorna aos pulmões, o  $\text{CO}_2$  é eliminado e o pH volta para 7,40, trazendo a curva para a esquerda. Há um aumento da afinidade da Hb pelo  $\text{O}_2$ , aumentando sua captação nos alvéolos. Outros fatores podem ocasionar acidose sanguínea, o ácido láctico produzido durante uma atividade física intensa diminui a afinidade entre hemoglobina e oxigênio desviando a curva para direita. A queda da temperatura corpórea sistêmica desvia a curva da  $\text{HbO}_2$  para a esquerda, aumentando a afinidade da Hb pelo  $\text{O}_2$ . Ao contrário, o aumento de temperatura sistêmica desvia a curva para a direita e a afinidade entre a Hb e o  $\text{O}_2$  diminui. Nos tecidos, as alterações da temperatura estão relacionadas com a taxa metabólica, pois as áreas de grande atividade metabólica apresentam temperaturas mais elevadas.

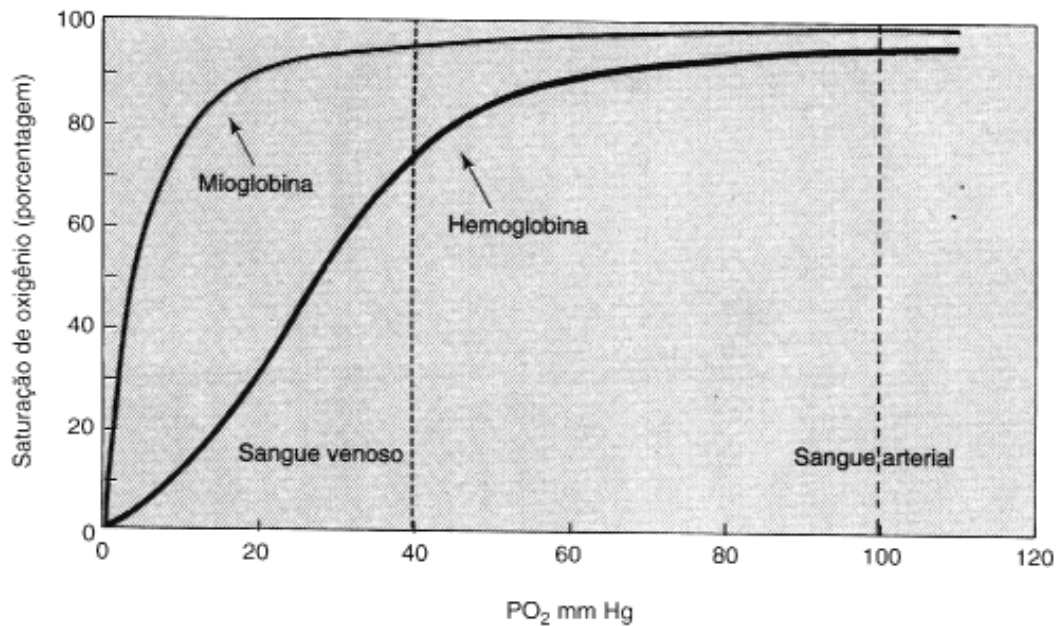


**Figura 1.** Curva de dissociação  $\text{HbO}_2$  e os efeitos que modulam a sua posição.

### ***Ventilação durante o Exercício***

Como vimos anteriormente, a hemoglobina é uma proteína conjugada presente no eritrócito. Diferente da mioglobina, que também é uma proteína que se encontra nas fibras musculares (esqueléticas e cardíacas), sendo as fibras de contração lenta (aeróbias) as que possuem maior quantidade desta proteína. Além disso, a mioglobina possui maior afinidade pelo oxigênio do que a hemoglobina e,

por isso, a curva de dissociação da mioglobina- $O_2$  é muito mais acentuada do que a da hemoglobina para valores de  $PO_2$  inferiores a 20mmHg (Fig. 02). Essa forma da curva implica num descarregamento de  $O_2$  em valores baixos de  $PO_2$ , sendo importante em momentos de contração, uma vez que a  $PO_2$  nas mitocôndrias do músculo pode estar baixa (1-2mmHg).

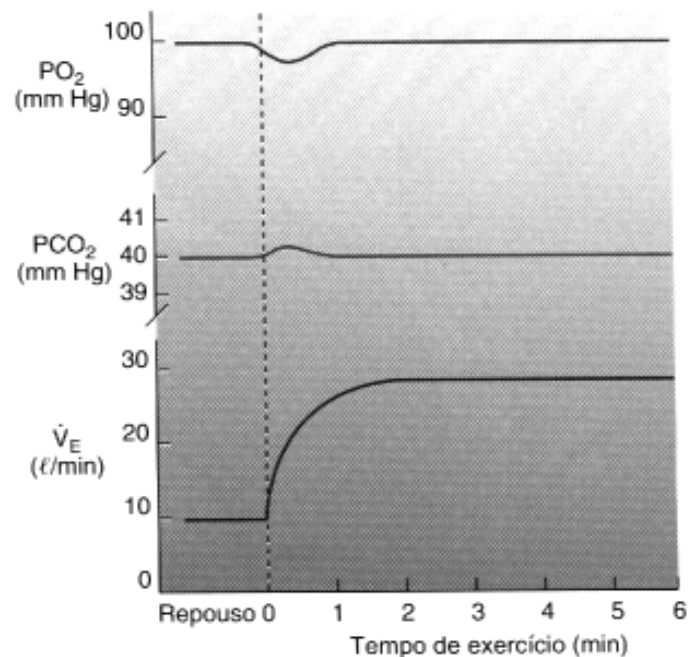


**Figura 2.** Curva de dissociação Hb- $O_2$  e mioglobina.

Como se sabe, neurônios localizados no Bulbo (centro respiratório) estimulam motoneurônios medulares que por sua vez controlam a musculatura respiratória. Receptores químicos e estímulos nervosos ao córtex motor excitam o centro respiratório e este modula a frequência respiratória. O estímulo nervoso pode vir dos centros cerebrais superiores ou se originar nos receptores do músculo em exercício. O estímulo químico pode ser oriundo dos quimiorreceptores centrais (sensíveis ao aumento de  $PCO_2$  e diminuição de pH), periféricos (sensíveis principalmente a diminuição de  $PO_2$ ) e receptores pulmonares hipoteticamente sensíveis a aumentos de  $PCO_2$ .

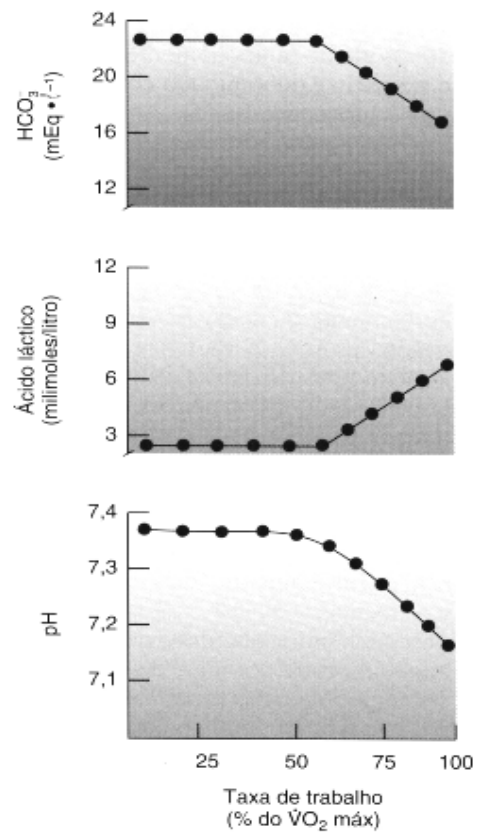
Considerando uma atividade física moderada (esforço submáximo), em que a  $PCO_2$  arterial permanece constante, a  $PO_2$  arterial cai ligeiramente e o pH arterial permanece constante, (Fig. 03), torna-se inexplicável o estímulo responsável pelo aumento da ventilação durante esta atividade. Há hipóteses de receptores

articulares ou musculares que durante o movimento sensibilizam o centro respiratório; outra hipótese é o aumento da temperatura entre outras que não estão completamente esclarecidas.



**Figura 3.** Alterações da ventilação e das pressões parciais de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> na transição de repouso para um exercício submáximo.

No exercício intenso há uma produção de ácido láctico como consequência da glicólise. Isso acarreta numa diminuição do pH sanguíneo podendo ser a explicação do aumento na ventilação durante o exercício (Fig. 04). Outros fatores como o nível sérico de potássio, elevação da temperatura corporal, elevação de catecolaminas no sangue e possíveis influências nervosas, também contribuem para o controle ventilatório durante o exercício intenso.



**Figura 4.** Alterações sanguíneas de ácido láctico, bicarbonato e do pH em função da taxa de trabalho.



## PRÁTICA I: Curva de Dissociação Hb-O<sub>2</sub>

### OBJETIVO

- Construir a curva de dissociação hemoglobina-oxigênio;
- Verificar o efeito da Temperatura sobre a curva de dissociação.

### MATERIAL E MÉTODOS

**1) Animais: Ratos Wistar com peso médio de 300g.**

**2) Coleta sanguínea:** O animal será anestesiado com éter e em seguida uma incisão abdominal será realizada para a retirada do maior volume sanguíneo possível (10 ml) em uma seringa heparinizada.

**3) Gasometria de PO<sub>2</sub>, PCO<sub>2</sub> e pH:** As amostras sanguíneas iniciais serão submetidas à análise da pressão parcial de O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> e do pH. Para isso, parte da amostra de sangue será injetada em uma câmara com eletrodo do tipo CLARCK. A calibração do eletrodo de O<sub>2</sub> é realizada pela exposição deste ao ar atmosférico ou ao nitrogênio puro (N<sub>2</sub>). Será estipulado zero mmHg de pressão de oxigênio com a aplicação do N<sub>2</sub> e 150 mmHg com o ar atmosférico. A amostra sanguínea deve ser injetada na câmara logo após a obtenção da amostra. O valor da PaO<sub>2</sub> será anotado durante os primeiros 5 minutos, tempo suficiente para que o eletrodo se torne estável. Em seguida, a mesma amostra sanguínea será submetida ao eletrodo de pH para a devida análise desta variável. A calibração do eletrodo de pH é realizada utilizando-se solução tampão de SØRENSEN e o eletrodo de CO<sub>2</sub> será calibrado com concentrações padrão de CO<sub>2</sub>. Os eletrodos devem ser mantidos a uma temperatura próxima a do corpo do animal (cerca de 38° C). Além disso, a calibração deve ser realizada na mesma temperatura.

**4) Tonometria:** a tonometria consiste na colocação de volumes similares de sangue (5 ml) em dois tonômetros ventilados com misturas gasosas diferentes. O primeiro tonômetro contém 30% de O<sub>2</sub> e 6% de CO<sub>2</sub>, e é balanceado com nitrogênio (N<sub>2</sub>). O segundo tonômetro contém 0% de O<sub>2</sub>, 6% de CO<sub>2</sub>, também balanceado com N<sub>2</sub>. A temperatura deve ser mantida a 38° C. Após 20 minutos de agitação, o sangue do tonômetro 1 apresentará saturação máxima de oxigênio, enquanto que o sangue do tonômetro 2 se apresentará dessaturado. Misturando-se proporções diferentes de sangue desses dois tonômetros, obter-se-á diferentes valores de saturação. Exemplos:

Retirando-se 0,5 ml de sangue do tonômetro 1, com uma seringa de 1 ml, e misturando-se com 0,5 ml do tonômetro 2, obtém-se uma saturação de 50%.

**5) Construção da curva de dissociação HbO<sub>2</sub>:** Para a construção da curva de dissociação HbO<sub>2</sub> se faz necessário plotar a saturação (10, 30, 50, 70 e 90%) no eixo Y contra seus correspondente valores de PO<sub>2</sub> (mmHg) no eixo X.

**6) Efeito da Temperatura:** O efeito da temperatura sobre a curva de dissociação HbO<sub>2</sub>, será avaliadao repetindo-se os procedimrentos anteriores, modificando-se apenas a temperatura do sistema para 25° C.

## **PRÁTICA II: Ventilação e PCO<sub>2</sub>**

### **OBJETIVO**

- Analisar a frequência respiratória e [CO<sub>2</sub>] durante atividade física.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

**1) Mensuração da frequência respiratória:** um voluntário em repouso, em atividade leve e finalmente em atividade intensa, com as narinas vedadas (clip nasal) e a boca acoplada a um pneumotacógrafo terá o fluxo de ar (ventilação) registrado. Através do polígrafo (Narco Insumas Instrument - USA) serão registrados os gráficos de frequência respiratória nos 3 estados físicos do voluntário.

**2) Registro do conteúdo de CO<sub>2</sub>:** O fluxo de CO<sub>2</sub> será registrado através do analisador de CO<sub>2</sub> Backmnan. E o polígrafo, como anteriormente, registrará o gráfico do [CO<sub>2</sub>] que estará demosntrado nos 3 estados.

### **REFERÊNCIAS BIBILIOGRÁFICAS**

HLASTALA, M., BERGER, A.J., **Physiology of Respiration** (1996). Oxford University Press, New York.

RANDALL, D., BURGGREN, W., FRENCH, K. (1997). **Eckert Animal Physiology: Mechanisms and Adaptations**. 4ª ed. W. H. Freeman and Company, New York.

RANG, H.P., DALE, M.M., RITTER, J.M. (2001). **Farmacologia**. 4ª ed., Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, R.J.

SCANLAN, C.L. & WILKINS, R.L. & STOLLER, J.K. (2000). **Fundamentos da Terapia Respiratória de Egan**. Editora Manole. São Paulo, S.P.

WEST, J.B. (1995). **Respiratory Physiology: the essentials**. 5ª ed., Williams &wilkins, Baltimore.