

Hipoxia e hipercapnia no controle respiratório do peixe-boi da Amazônia (*Trichechus inunguis*) (1)

G. J. Gallivan (2)

Resumo

As respostas estabilizadas à hipoxia e hipercapnia foram estudadas em peixes-bois da Amazônia (*Trichechus inunguis*) em mergulhos livres. Respirando o ar atmosférico, os peixes-bois apresentavam um O_2 alveolar de término de mergulho de 60 mmHg e um CO_2 alveolar de 71 mmHg. A ventilação minuto aumentou linearmente com o CO_2 inspiração durante a respiração hipercápnica e os animais mantiveram um CO_2 alveolar constante. Nenhuma resposta à inalação de misturas hipóxicas foi observada até que o O_2 alveolar fosse menor que 30 mmHg, depois do que a ventilação aumentava marcadamente. O aumento na ventilação minuto, durante ambos os experimentos, hipóxico e hiper-cápnico, era primeiramente devido a um aumento da frequência respiratória que corresponde a um decréscimo no tempo de mergulho. Conclui-se que o CO_2 , não o O_2 é o fator importante no controle da ventilação e mergulho no peixe-boi.

INTRODUÇÃO

O controle da duração de mergulho em mamíferos aquáticos basicamente reside no controle da ventilação que é essencial à vida. Tem sido proposto (Irving *et al.*, 1935; Irving, 1938; Scholander, 1940; Scholander & Irving, 1941; Irving *et al.*, 1941; Kooyman *et al.*, 1971; Pasche, 1976a) que esse controle é devido à sensibilidade hipóxica. Essa hipótese é baseada em observações de grandes mudanças na concentração de O_2 pulmonar e em pequenas mudanças na concentração de CO_2 pulmonar durante mergulhos e na tolerância às altas concentrações de CO_2 pulmonar e à baixa sensibilidade ao CO_2 inspirado dos mamíferos aquáticos. Nenhuma dessas razões fornece base adequada para a hipótese do controle hipóxico da ventilação ou mergulho. As grandes

variações na concentração de O_2 e pequenas variações na concentração de CO_2 resultarão das diferentes solubilidades desses gases no sangue. Nenhuma dos dois últimos mecanismos, altas concentrações de CO_2 e baixa sensibilidade ao CO_2 inspirado, são medidas válidas da sensibilidade de CO_2 e a literatura sobre sensibilidade de CO_2 deve ser reavaliada.

Os sensores de CO_2 são os quimiorreceptores bulbares que respondem a uma mudança de pH do fluido cerebrospinal. Uma mudança na ventilação minuto (\dot{V}_E) em relação ao CO_2 , que normalmente é expressa como de CO_2 alveolar ou arterial ($P_{A\ CO_2}$ ou $P_{a\ CO_2}$), é uma medida indireta da sensibilidade quimiorreceptora (Dempsey, 1976). A maioria dos autores que estudam mamíferos aquáticos (Irving *et al.*, 1935; Irving, 1938; Scholander, 1940; Scholander & Irving, 1941; McCormick, 1969) tem expressado a resposta ventilatória somente como uma função do CO_2 inspirado. Como mamíferos mergulhadores tendem a ter uma capacidade elevada de tamponamento sanguíneo (Lenfant, 1969; Lenfant *et al.*, 1970), as mudanças de $P_{a\ CO_2}$, em resposta ao CO_2 inspirado, será grandemente diminuída e CO_2 inspirado não pode fornecer uma medida precisa da sensibilidade do CO_2 . Robin *et al.* (1963) e Bainton *et al.* (1973) expressaram seus resultados como $\Delta \dot{V}_E / \Delta P_{A\ CO_2}$ e mostraram que a inclinação absoluta da resposta hipercápnica de focas era reduzida, relativa à resposta apresentada pelos humanos. Por conseguinte, eles concluíram que a sensibilidade hipercápnica de focas era reduzida. Contudo, os animais usados nesses estudos tinham uma \dot{V}_E considera-

(1) — Versão original inglesa publicada em *Physiological Zoology* 53(3):254-261, University of Chicago Press.

(2) — Department of Anaesthesia, McMaster University, Hamilton, Ontario, Canadá.

velmente mais baixa que a dos humanos, aos quais eles eram comparados. Quando os resultados de Robin *et al.* (1963) foram calculados como uma mudança relativa em \dot{V}_E (Bentley *et al.*, 1967), as inclinações foram similares mas as focas reagiram a uma $P_{a\text{CO}_2}$ mais alta.

Pasche (1976b), estudando focas em mergulho livre, obteve resultados similares.

Os sensores da hipoxia são os quimiorreceptores periféricos localizados no corpo carotídeo. Bainton *et al.* (1973) demonstraram a sensibilidade hipóxica em focas presas, amarradas, fora da água. Mas, durante o mergulho, a resposta sensorial dos receptores trigêmeos inibe a resposta ventilatória para estimular os quimiorreceptores carotídeos (Angell-James & Daly, 1973; Elsner *et al.*, 1977). Ainda assim, Pasche (1976a) demonstrou a sensibilidade hipóxica em focas em mergulho livre, mas seus resultados são apresentados somente em relação ao O_2 inspirado e a resposta às pressões de O_2 alveolar ou arterial ($P_{A\text{CO}_2}$ ou $P_{a\text{O}_2}$) não foi definida.

A maioria dos estudos do controle ventilatório em mamíferos aquáticos tem sido realizada com focas. Irving (1938) mediu a resposta ventilatória para o CO_2 inspirado em ratos amiscarados e castores e McCormick (1969) realizou esse experimento com um golfinho. Os resultados para outros grupos são conjecturais. Como a habilidade de mergulho evoluiu separadamente em diferentes grupos, dados comparativos conduziram a uma maior compreensão dos mecanismos de controle respiratório nesses animais. Dados sobre controle respiratório de Sirênios estão limitados a um experimento de re-respiração feito por Scholander & Irving (1941). Seus resultados estão longe de ser conclusivos mas eles postularam que peixes-bois são insensíveis ao CO_2 . O presente estudo foi efetuado para examinar mais amplamente os papéis das sensibilidades hipóxica e hipercápnica no controle da respiração e mergulho em peixes-bois.

MATERIAIS E MÉTODOS

Três peixes-bois da Amazônia (*Trichechus inunguis*), cujas características físicas são da-

das na Tabela 1, foram utilizados neste estudo. Os animais foram testados em um tanque de 2,75 x 1,75 m, cheio a uma profundidade de 1 m. Com os animais nº 01 e 11, uma taxa divisória foi utilizada, para reduzir o tamanho do tanque para 2,3 x 0,8 m, para restringir qualquer atividade desnecessária. Durante o experimento, o tanque foi coberto por uma placa de madeira compensada, submersa aproximadamente 5 cm sob a superfície da água. Uma máscara respiratória adaptada a uma válvula tipo Lloyd estava colocada em um canto da placa de madeira compensada. O escoadouro da válvula era conectado a um espirômetro para a coleta do ar expirado e a entrada da válvula era conectada a sacos plásticos contendo misturas de gases. Um diagrama do sistema experimental é apresentado na Figura 1.

As medidas durante a normoxia e a normocapnia eram feitas em períodos de 30 min., enquanto os animais respiravam o ar atmosférico. Durante o experimento hipóxico e hipercápnico, os animais respiravam a mistura de gases por 15 a 20 min., antes de a amostra ser coletada, por um período de 15 a 20 minutos. Seis a oito coletas foram feitas de cada animal respirando o ar atmosférico e duas coletas foram feitas com cada mistura de gás. Durante cada período de coleta, um observador anotava o volume expirado e o tempo de cada respiração. As análises de gases foram feitas com um analisador de 0,5 cc (Scholander, 1947).

As misturas de gases foram feitas no espirômetro e armazenadas em sacos de polietileno. As misturas para o experimento hipóxico foram feitas adicionando-se N_2 , a 100%, ao ar atmosférico. Misturas hiperóxicas foram feitas adicionando-se O_2 , a 100%, ao ar ambiental. Não havia disponibilidade de CO_2 engarrafado mas o ar expirado dos peixes-bois continha 7 a 10% de CO_2 (Gallivan & Best, 1980). Por conseguinte, misturas hipercápnicas eram feitas, coletando-se ar expirado no espirômetro e a concentração de CO_2 desejada era obtida adicionando-se ar atmosférico e suficiente O_2 para assegurar que a concentração de O_2 fosse de 21%.

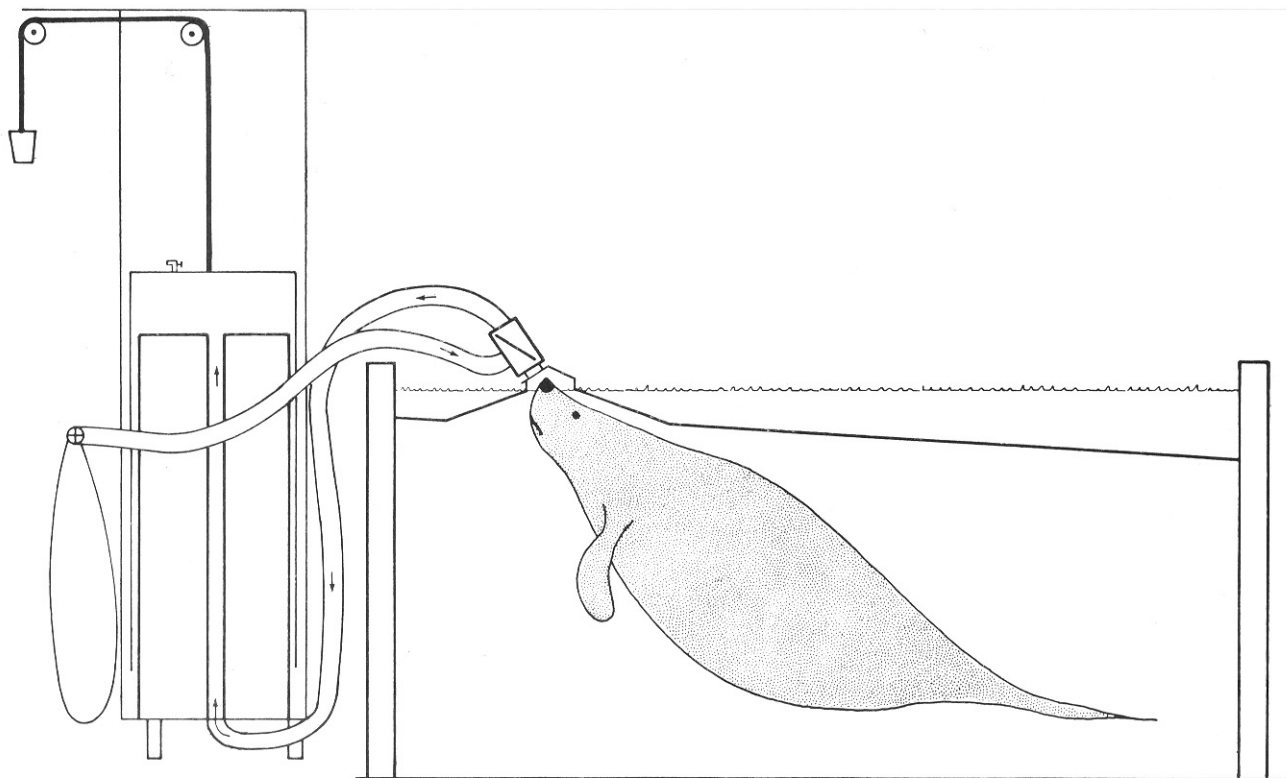


Fig. 1 — Desenho do sistema experimental utilizado no estudo.

Polietileno é permeável a gases, assim, as amostras foram tomadas dos sacos antes e depois de cada experimento. A concentração de CO_2 declinou numa média de 0,18% e a concentração de O_2 declinou por 0,03%. Nenhuma dessas mudanças foi significativamente diferente de zero quando amostras de antes e depois foram comparadas usando um test-t emparelhado.

A frequência respiratória (f_R), volume corrente (\dot{V}_T), ventilação minuto (\dot{V}_E), consumo de oxigênio (\dot{V}_{O_2}) e proporção de troca respiratório (R) foram calculados de cada período de coleta. Os peixes-bois da Amazônia exalam e depois inalam uma vez a cada vez que vêm à superfície, assim cada mergulho é uma retenção da respiração. $P_{A \text{ O}_2}$ e $P_{A \text{ CO}_2}$ foram calculados da suposição de que, durante a retenção da respiração, a composição do gás misturado expirado se aproximava do gás alveolar. Resultados de testes subseqüentes (Gallivan, Kan-

wisher & Best, não publicado) confirmaram essa suposição.

RESULTADOS

Todos os animais apresentavam uma resposta ventilatória similar para o O_2 inspirado (Figura 2a). A Figura 3 mostra que \dot{V}_E não variou de modo importante até que $P_{A \text{ O}_2}$ se tornasse menor que 30 mm Hg, depois \dot{V}_E aumentou rapidamente. Durante o experimento hipóxico $P_{A \text{ CO}_2}$ foi negativamente correlacionado com \dot{V}_E ($\bar{r} = 0,93$ e $N = 13$), como mostra a Figura 4. R foi positivamente correlacionado com \dot{V}_E ($\bar{r} = 0,90$). Durante o experimento hiperóxico, $P_{A \text{ CO}_2}$ foi o mesmo que o ocorrido durante o experimento normóxico.

Ambos os animais apresentaram uma resposta ventilatória linear para inspirar CO_2 (Figura 2B). A Figura 5 mostra que o animal nº 18 manteve uma $P_{A \text{ CO}_2}$ constante, enquanto

\dot{V}_E aumentava. Uma regressão de \dot{V}_E por PA_{CO_2} do animal nº 01 produziu a linha pontilhada da Figura 5. Contudo, um teste de comparação de PA_{CO_2} durante a normocapnia e hipercapnia, não foi significativa. Isso sugere que PA_{CO_2} não variou durante o experimento hipercápnic.

As relações entre \dot{V}_E e f_R , e \dot{V}_E e V_T , para o animal nº 01, são mostradas na Figura 6. Todos os animais apresentaram a mesma alta correlação ($r = 0,95$ e $N = 22$) entre \dot{V}_E e f_R durante ambos experimentos: hipóxico e hipercápnic. As correlações entre \dot{V}_E e V_T não foram significativas.

O consumo de oxigênio não variou significativamente durante os experimentos hipóxico

ou hipercápnic. Os valores f_R , V_T e \dot{V}_E da respiração-por-respiração, coletados em cada período do experimento, foram testados ao acaso serial usando o teste de diferença sucessiva da média quadrada (Zar, 1974). Os resultados não foram significativos.

DISCUSSÃO

Os peixes-bois da Amazônia são mergulhadores de respiração suspensa e respiram somente a cada vez que vêm à superfície. Assim, f_R é o inverso do tempo do mergulho. A alta correlação entre \dot{V}_E e f_R também indica uma forte relação entre \dot{V}_E e tempo de mergulho. Os aumentos em \dot{V}_E , devidos a estimulantes

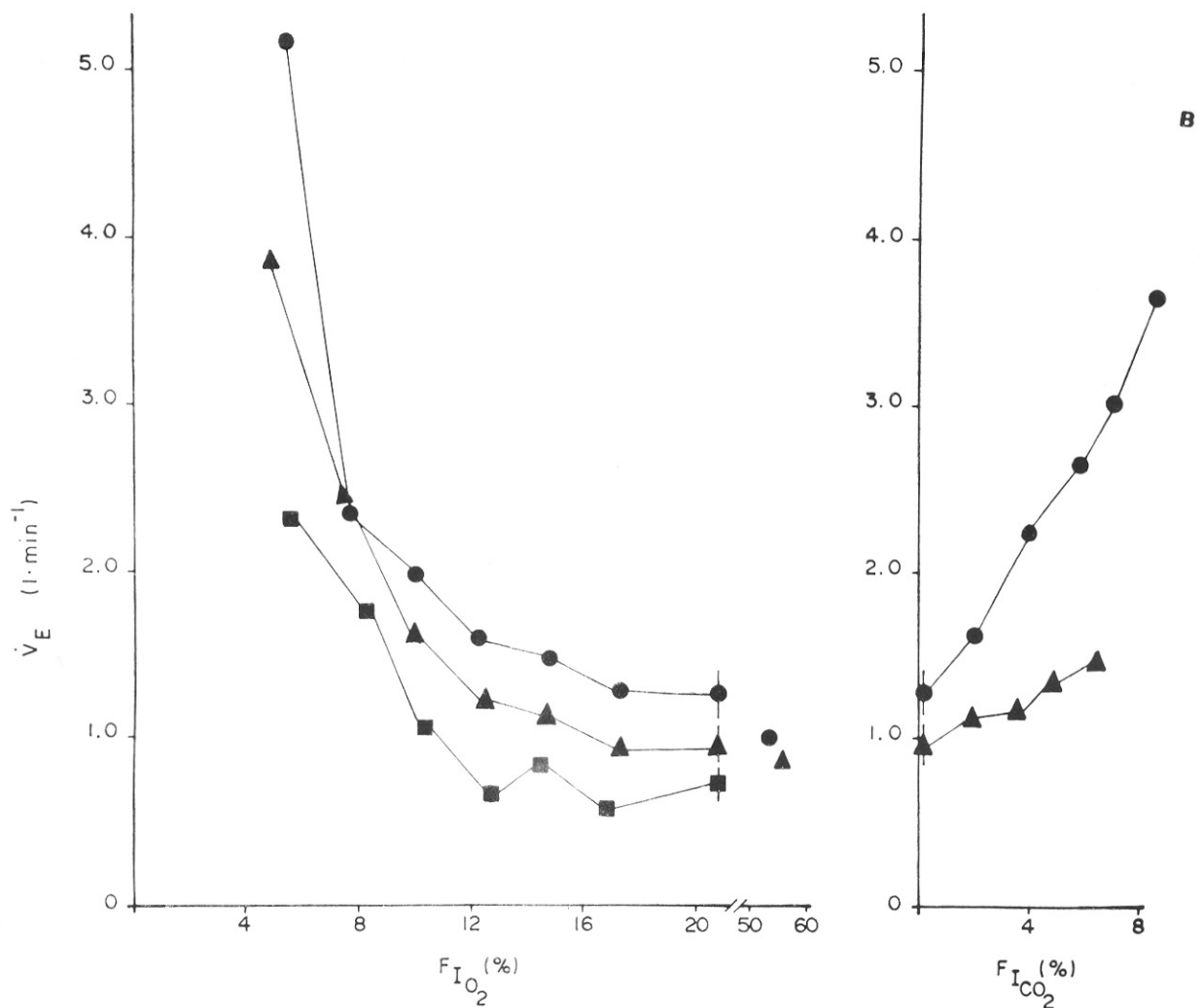


Fig. 2 — Relações entre ventilação minuto (\dot{V}_E) e o O_2 inspirado ($F_{I O_2}$) e concentrações de CO_2 ($F_{I CO_2}$) deste estudo. Os triângulos são para o animal n.º 01, os quadrados para o animal n.º 11 e os círculos para o animal n.º 18. As linhas verticais são ± 1 desvio padrão, enquanto os animais respiravam o ar atmosférico.

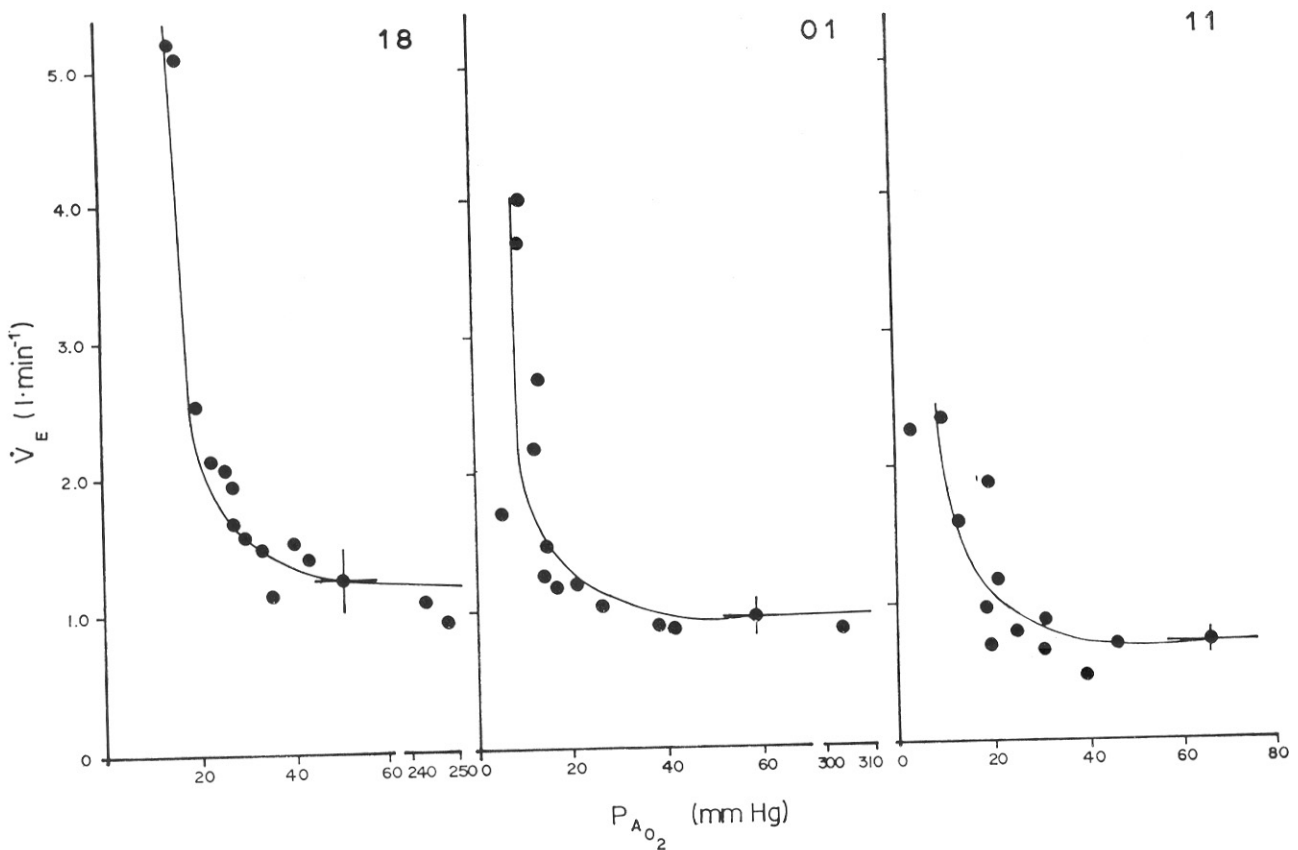


Fig. 3 — Relações entre pressão de O_2 alveolar ($P_{A_{O_2}}$) e ventilação minuto (\dot{V}_E). O ponto de inflexão para todos os animais é inferior a 30 mmHg. As cruzes são as médias ± 1 desvio padrão de \dot{V}_E e $P_{A_{O_2}}$ durante a respiração normocapnica.

respiratórios, hipoxia e hipercapnia resultaram de uma diminuição no tempo de mergulho. Pasche (1976a, 1976b) também verificou que a resposta ventilatória a estimulantes respiratórios era manifestada por uma mudança nos padrões de mergulho. Esses resultados sugerem que estímulos ventilatórios são fatores importantes no controle da duração do mergulho em mamíferos aquáticos.

Os resultados do presente estudo mostram que, enquanto peixes-bois são tolerantes a alta $P_{A_{CO_2}}$, eles não são insensíveis ao CO_2

como havia sido proposto anteriormente (Schlander & Irving, 1941). O aumento em \dot{V}_E , sem aumentos em $P_{A_{CO_2}}$, indica uma acentuada sensibilidade. Não obstante ao CO_2 adicionado, esses animais aumentavam sua ventilação para

manter um $P_{A_{CO_2}}$ linear. Esta linearidade parece ser relativamente elástica, mas deve ser lembrado que $P_{A_{CO_2}}$ é somente um indicador para o pH do fluido cerebrospinal. O pH do fluido cerebrospinal e $P_{A_{CO_2}}$ não variam simultaneamente e essa diferença é ampliada quando $P_{A_{CO_2}}$ é atingida pelos fatores respiratórios, tais como ventilação e fatores metabólicos, tais como ácido láctico do corpo que não influencia diretamente o fluido cerebrospinal.

Notou-se na introdução que o caminho primário para a resposta hipóxica é bloqueada durante o mergulho. Ainda, os peixes-bois neste estudo e as focas estudadas por Pasche (1976a) reagiram à hipoxia. É provável que essa resposta era moderada, via quimiorrecep-

Hipoxia e...

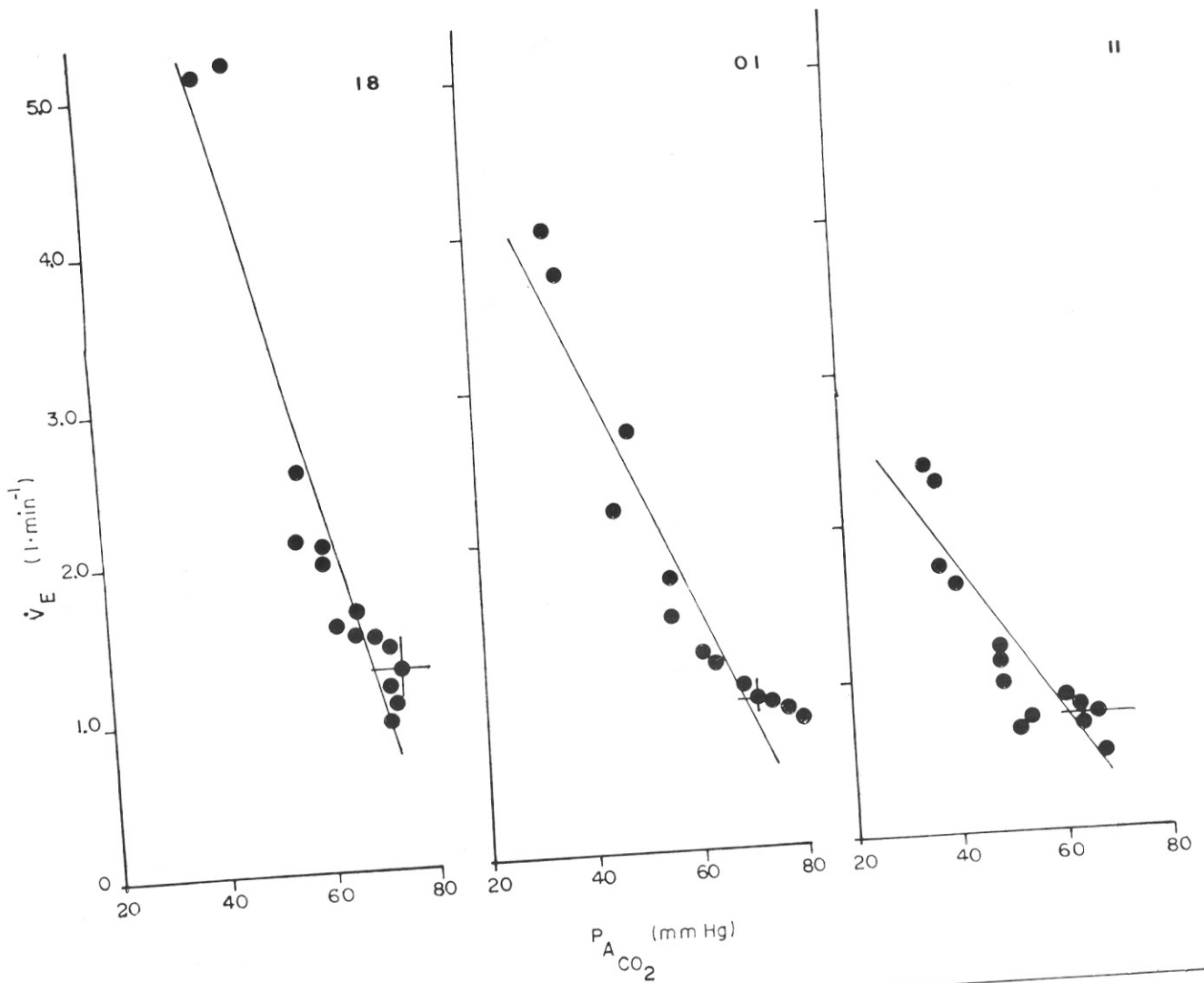


Fig. 4 — Relações entre pressão de CO_2 alveolar ($P_{A \text{CO}_2}$) e ventilação minuto (\dot{V}_E) durante o experimento hipóxico. $P_{A \text{CO}_2}$ diminui, como um resultado da hiperventilação causada pela hipóxia.

tores centrais, como é a resposta ao CO_2 . Em focas mergulhadoras, Kerem & Elsner (1973) demonstraram a produção de ácido láctico no cérebro, quando a pressão de O_2 descia a um nível crítico. Leusen (1972) notou que o ácido láctico produzido no cérebro pode ser um fator importante da diminuição do pH do fluido cerebrospinal. Essa queda no pH seria um poderoso estímulo para os quimiorreceptores bulbares. Os peixes-bois neste estudo reagiram à hipóxia a um $P_{A \text{O}_2}$ de 25 a 30 mm Hg. Nesse $P_{A \text{O}_2}$ é provável que havia O_2 insuficiente

nos tecidos para manter o metabolismo puramente aeróbico e, desse modo, ácido láctico foi produzido, fornecendo um estímulo hipóxico.

A resposta hipóxica, neste estudo, provavelmente foi reduzida. A $P_{A \text{CO}_2}$ deveria ser mantida, durante o experimento hipóxico (Cherniack *et al.*, 1977). A hiperventilação devida à hipóxia neste estudo produziu um declínio na $P_{A \text{CO}_2}$ e uma retração do estímulo hipercápnico. Como ambos, CO_2 e O_2 , estão agindo através dos mesmos quimiorreceptores a resposta global deveria estar reduzida.

Gallivan

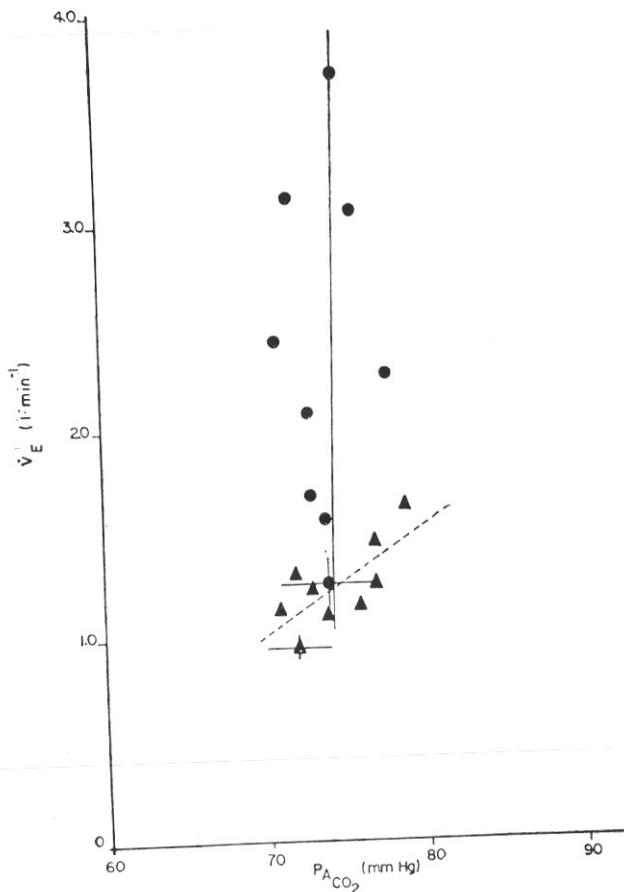


Fig. 5 — Relações entre pressão de CO₂ alveolar (P_A CO₂) e ventilação minuto (V_E), durante o experimento hipercapnico. Os triângulos são para o animal n.º 01 e os círculos para o animal n.º 18.

Três fatores sugerem que CO₂, em lugar de O₂, é o controlador primário da ventilação e duração dos mergulhos nos peixes-bois. Primeiro, eles exibem uma maior sensibilidade à hipercapnia do que à hipóxia, como é apresentado pelas suas respostas ao O₂ e CO₂ alveolar (Figuras 3 e 5). Em segundo lugar, a P_A O₂ crítica da resposta hipóxica é muito menor do que a P_A O₂ normal de término de mergulho (Tabela 1). Valores comparáveis à P_A O₂ crítica são atingidos somente em mergulhos aproximando-se de 10 minutos de duração (Kanwisher *et al.*, 1980) e esses mergulhos também têm um estímulo hipercápnico significativo. Em terceiro lugar, enquanto estão respirando misturas hiperóxicas, os peixes-bois mergu-

Hipoxia e...

TABELA 1. Características físicas e pressões normais de O₂ alveolar e CO₂ dos peixes-bois utilizados neste estudo.

Animal	01	11	18
Peso (kg)	87	36	177
Idade (ano)	4+	1+	8+
Sexo	M	M	M
P _A CO ₂ (mmHg) ¹	60±4	68±5	51±3
P _A CO ₂ (mmHg) ¹	72±2	67±4	74±3
Experimentos com O ₂	+	+	+
Experimentos com CO ₂	+	—	+

(1) — Expressando como média ± desvio padrão.

lham pelo mesmo período e vêm a superfície com uma mesma P_A CO₂ como durante a respiração normóxica. Assim, é difícil reconciliar a hipótese de que a hipoxia é o fator controlador na ventilação e tempo de mergulho. Enquanto os peixes-bois são tolerantes a altas concentrações de CO₂, como os mamíferos terrestres, o CO₂ em lugar de O₂ é o estímulo respiratório primário. O oxigênio exerce uma influência, mas somente durante a hipoxia severa, onde ele age por via dos mesmos caminhos como o CO₂.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi possível graças à cooperação do Sr. R. Best, Dr. W. E. Kerr, Dr. W. J. Junk e o pessoal do Projeto Peixe-Boi e Divisão de Peixe e Pesca, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Agradeço também a Megumi Yamakoshi, pela tradução e dactilografia do manuscrito e Dr. F. de Pimentel-Souza, UFMG pelos seus comentários sobre o trabalho. Os fundos foram fornecidos pelo CNPq e Vancouver Public Aquarium.

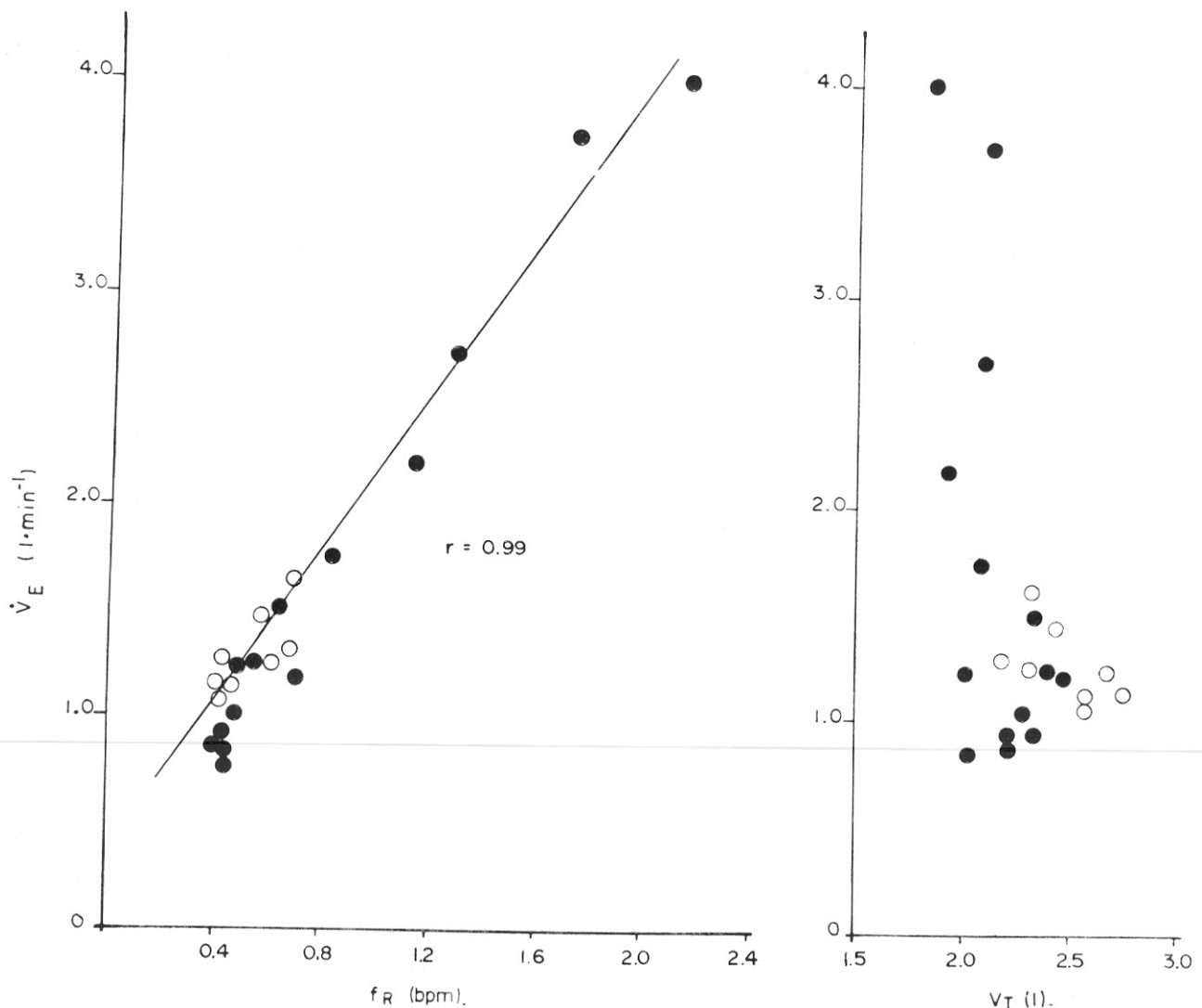


Fig. 6 — Relações entre ventilação minuto (\dot{V}_E) e frequência respiratória (f_R) e volume de corrente (V_T) para o animal n.º 01. Os círculos negros são para o experimento hipóxico e os círculos brancos para o experimento hipercapnico.

SUMMARY

The steady state responses to hypoxia and hypercapnia were studied in freely diving Amazonian manatees (*Trichechus inunguis*). Breathing room air the manatees had an end-dive alveolar O_2 of 60 mm Hg and an alveolar CO_2 of 71 mm Hg. Minute ventilation increased linearly with inspired CO_2 during the hypercapnic breathing and the animals maintained a constant alveolar CO_2 . No response to the inhalation of hypoxic mixtures was until the alveolar O_2 was less than 30 mm Hg, following which ventilation increased markedly. The increase in minute ventilation during both the hypoxic and hypercapnic testing was primarily due to an increase in breathing frequency which corresponded to a decrease in time. It is concluded that CO_2 , not O_2 , is the important factor in the control of ventilation and diving in the manatee.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGELL-JAMES, J.E. & DALY, M. DE BURGH
1973 — The interaction of reflexes elicited by stimulation of carotid body chemoreceptors and receptors in the nasal mucosa affecting respiration and pulse interval in the dog. *J. Physiol. (Lond.)*, 299:133-149.
- BAINTON, C.R.; ELSNER, R.; MATTHEWS, R.C.
1973 — Inhaled CO_2 and progressive hypoxia: ventilatory response in a yearling and a newborn harbor seal. *Life Sci.*, 12:527-533.
- BENTLEY, P.J.; HERREID II, C.F.; SCHMIDT-NIELSEN, K.
1967 — Respiration of a monotreme, the echidna (*Tachyglossus oculatus*). *Am. J. Physiol.*, 212:957-961.

- CHERNIACK, N.S.; DEMPSEY, J.; FEREL, V.; FITZGERALD, R.S.; LOURENÇO, R.V.; REBUCK, A.S.; RIGG, J.; SEVERINGHAUS, J.W.; WEIL, J.W.; WHITELOW, W.A.; ZURLICH, C.W.
 1977 — Workshop on assessment of respiratory control to hypoxia and hypercapnia. **Am. Rev. Respir. Dis.**, 115:177-181.
- DEMPSEY, J.A.
 1976 — CO₂ response: stimulus definition and limitations. **Chest**, 70:114-118.
- ELSNER, R.; ANGELL-JAMES, J.E.; DALY, M. DE BURGH
 1977 — Carotid body chemoreceptor reflexes and their interactions in the seal. **Am. J. Physiol.**, 232:H517-H525.
- GALLIVAN, G.J. & BEST, R.C.
 1980 — Metabolism and respiration of the Amazonian manatee (*Trichechus inunguis*). **Physiol. Zool.**, 53(3):245-253.
- IRVING, L.
 1938 — The insensitivity of diving animals to CO₂. **Am. J. Physiol.**, 124:729-734.
- IRVING, L.; SCHOLANDER, P.F.; GRINNEL, S.W.
 1941 — The respiration of the porpoise (*Tursiops truncatus*). **J. Cell. Comp. Physiol.** 17: 145-168.
- IRVING, L.; SOLANDT, O.M.; SOLANDT, D.Y.; FISHER, K.C.
 1935 — The respiratory metabolism of the seal and its adjustment to diving. **J. Cell. Comp. Physiol.**, 7:137-151.
- KANWISHER, J.; BEST, R.C.; GALLIVAN, G.J.
 s/d — The aquatic physiology of the Amazonian manatee (*Trinchechus inunguis*). (em preparação).
- KEREM, D. & ELSNER, R.
 1973 — Cerebral tolerance to asphyxial hypoxia in the harbor seal, **Respir. Physiol.**, 19: 188-200.
- KOOYMAN, G.L.; KEREM, D.H. CAMPBELL, W.B.; WRIGHT, J.J.
 1971 — Pulmonary function in freely diving Weddell seals (*Leptonychotes weddelli*). **Respir. Physiol.**, 12:271-282.
- LENFANT, C.
 1969 — Physiological properties of the blood of marine mammals. p. 95-116. In: H. T. Andersen, ed. The biology of marine mammals. Academic Press. New York.
- LENFANT, C.; JOHANSEN, K.; TORRANCE, J.D.
 1970 — Gas transport and O₂ storage capacity in some pinnipeds and the sea otter. **Respir. Physiol.**, 9:277-286.
- LEUSEN, I.
 1972 — Regulation of cerebrospinal fluid composition with reference to breathing. **Physiol. Rev.**, 52:1-56.
- MCCORMICK, J.G.
 1969 — Relationship of sleep; respiration and anesthesia in the porpoise: a preliminary report. **Nat. Acad. Sci. Proc. (U.S.)**, 62: 697-703.
- PASCHE, A.
 1976a — Hypoxia in freely diving hooded seal, (*Cystophora cristata*) **Comp. Biochem. Physiol.**, 55A:319-322.
 1976b — The effect of hypercapnia on respiratory characteristics and diving behaviour of freely diving seals. **Respir. Physiol.**, 26: 183-194.
- ROBIN, E.D.; MURDAUGH, Jr., H.V.; PYRON, W.; WEISS, E.; SOTERES, P.
 1963 — Adaptations to diving in the harbor seal — gas exchange and ventilatory response to CO₂. **A. J. Physiol.**, 205:1175-1177.
- SCHOLANDER, P.F.
 1940 — Experimental investigations on the respiratory function in diving birds and mammals. **Hvalrad. Skr.**, 22:1-131.
 1947 — Analyzer for accurate estimation of respiratory gases in one-half cubic centimeter samples. **J. Biol. Chem.**, 167:235-250.
- SCHOLANDER, P.F. & IRVING, L.
 1941 — Experimental investigations on the respiratory and diving of the Florida manatee. **J. Cell. Comp. Physiol.**, 17:169-191.
- ZAR, J.H.
 1974 — **Biostatistical analysis**. Prentice — Hall. Englewood Cliffs. 620 pp.

(Aceito para publicação em 19/01/81)