

Efeitos da respiração aérea sobre o balanço ácido-base no cascudo *Hypostomus* sp. (*)

Stephen C. Wood (1)
Roy E. Weber (2)
Bonnie J. Davis (3)

Resumo

O cascudo (*Hypostomus* sp.) induzido por água hipóxica a respirar ar apresentou o mesmo pH (7,39 a 30°C) que os peixes mantidos em água bem oxigenada e dependentes apenas da ventilação branquial (pH 7,41). Ocorreu retenção do CO₂ (aumento da P_{CO₂} de 3 para 20 torr) no grupo hipóxico indicando troca gasosa aquática reduzida, porém ela foi completamente compensada por um aumento no bicarbonato plasmático (de 2 a 13 mmol/L). Este padrão do balanço ácido-base é semelhante àqueles encontrados em comparações prévias entre espécies diferentes de vertebrados com respiração aquática e aérea. O teor mais elevado de bicarbonato plasmático de peixes aclimatados à hipóxia é considerado vantajoso na tamponação de ácidos metabólicos produzidos pelo metabolismo anaeróbico.

INTRODUÇÃO

Vários problemas acompanharam os benefícios da respiração aérea durante a transição evolutiva da vida aquática para a terrestre. Um problema maior, a dessecação foi aliviada (exceto nos anfíbios) pela queratinização da pele. Isto contribuiu para um outro problema, ex., a retenção do dióxido de carbono. Outros fatores favorecendo a retenção do CO₂ foram (1) a redução drástica na ventilação permitida pela maior disponibilidade de oxigênio e (2) o fato de que o CO₂ é 28 vezes mais solúvel em água (20°C) do que o O₂. Conseqüentemente a P_{CO₂} na superfície de troca gasosa em organismos de respiração aérea aumentará apenas 1/28 mm Hg cada 1 mm Hg de diminuição na P_{CO₂} (cf. Rahn, 1967). No ar, entretanto, um decréscimo na P_{O₂} de 1 mm Hg resulta num aumento in P_{CO₂} de 1 mm (se a razão de troca respiratória = 1). Como foi discutido

por Howell (1970), a solução para esta acidose respiratória potencial durante a respiração aérea foi um aumento de HCO₃⁻ no plasma. Uma comparação de peixes modernos (Howell, 1970) mostra a transição clara de P_{CO₂} baixa em peixes de respiração aquática obrigatória, para P_{CO₂} elevada, HCO₃⁻ elevada em peixes de respiração aérea obrigatória. Uma transição similar é evidente entre peixes, anfíbios e répteis. Assim, para uma dada temperatura, a relação entre HCO₃⁻ e P_{CO₂}, e portanto, o pH, é constante.

As mudanças no P_{CO₂} e no bicarbonato que acompanharam a transição da respiração branquial para a pulmonar foram observadas previamente na ontogenia de anfíbios (Erasmus, Howel e Rahn, 1970) e durante a transição entre a respiração aérea e aquática no caranguejo intertidal (Truchot, 1975). O presente estudo indica que ocorre uma constância ácido-base similar no cascudo (*Hypostomus* sp.) induzido (por água hipóxica) a respirar o ar.

MÉTODOS E MATERIAIS

ANIMAIS E ACLIMATAÇÃO — Os cascudos *Hypostomus* sp., foram capturados por meio de tarrafa próximo a Manaus, Brasil. Pormenores da aclimatação são fornecidos em outro lugar (Weber *et al.*, 1977). Sucintamente um grupo (N=5) foi mantido em água oxigenada (P_{O₂} > 120 mm Hg), enquanto outro grupo (N=5) foi mantido em água hipóxica (P_{O₂} < 25 mm Hg).

Os peixes em água bem arejada ventilaram suas brânquias e não vieram à superfície para respirar. Em contraste, os peixes em água hipóxica vieram à superfície para respiração

(*) — Versão original inglesa publicada em *Comp. Biochem Physiol.* 62 A (1). 1979

(1) — Department of Physiology, University of New Mexico Albuquerque, New Mexico 87131.

(2) — Department of Zoophysiology, Aarhus University, Aarhus, Denmark.

(3) — Department of Biology, San Francisco State University, San Francisco, California 94132.

aérea em intervalos de (aproximadamente) 5 minutos, e a ventilação das brânquias não foi observada. Após 4-7 dias, os peixes foram capturados com rede e imediatamente sangrados.

MEDIDAS DO SANGUE — O sangue foi obtido por punção cardíaca. A técnica ideal, amostragem de sangue arterial de cânulas implantadas, foi excluída pelo pequeno tamanho (peso 100 g) dos peixes. Entretanto, dado o fato de esta espécie, ao contrário da maioria dos peixes, ser facilmente manuseada (com pouca ou nenhuma resistência), as punções cardíacas podem ser executadas rapidamente. Conseqüentemente, este método deveria fornecer valores de pH razoavelmente próximos aos valores de equilíbrio estacionário "normais" (cf. Rahn & Baumgardner, 1972).

PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS — Um microeletrodo de pH (Radiometer BMS-2) com temperatura controlada a 30°C foi usado para medir o pH do sangue *in vivo* e o pH do sangue equilibrado com ar ou 5,6% CO₂. A concentração de bicarbonato foi calculada a partir do pH e da P_{CO₂} com a equação de Henderson-Hasselbalch, $\text{HCO}_3^- \text{ mM/L} = 10 (\text{pH} - \text{pK}') \cdot \infty \text{ P}_{\text{CO}_2}$, usando os valores de Severinghaus (1971) para a solubilidade do CO₂ (∞) e pK'. A capacidade tampão é definida como $\Delta \text{HCO}_3^- / \Delta \text{pH}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O pH *in vivo* não foi afetado por exposição à água hipóxica e respiração aérea subsequente (Tab. 1). Entretanto, os valores (7,39 e 7,41) são cerca de 0,2 unidades mais baixos do que os referidos por Rahn e Garey (1973) para o sangue arterial (colhido de cateter implantado) de ectotérmicos da Amazônia (pH médio = 7,61 para 14 espécies a 28°C). Eles observaram que o pH do sangue obtido por punção cardíaca de um bagre (*Pharactocephalus hemiliopterus*) era cerca de 0,2 unidades mais baixo do que o do sangue arterial.

Os resultados mais interessantes deste estudo são apresentados na figura 1. O grupo de controle tem uma curva tampão típica de peixes de respiração aquática, ex., baixa P_{CO₂} *in vivo* (cerca de 3 mm Hg) e baixa concentração de HCO₃⁻ (cerca de 2 mM), dando um pH sangüíneo de 7,39. Os peixes mantidos em água hipóxica têm o mesmo pH sangüíneo porém com valores muito mais elevados de P_{CO₂} (cerca de 20 mm Hg) e HCO₃⁻ (cerca de 13 mM). Os valores de pH *in vivo* estão colocados na linha tampão para sangue completamente oxigenado. Eles cairiam em realidade sobre uma linha paralela e mais acima do que estas, visto que a saturação *in vivo* era menos de 100%. Estes resultados implicam que ocor-

TABELA 1 — Balanço ácido-base no cascudo *Hypostomus* sp., durante a respiração aquática e aérea (hipoxia aclimatada).

História da Aclimação	P _{CO₂} mmHg	Sangue Oxigenado		Sangue desoxigenado		pH <i>in vivo</i>
		pH	nM/L MCO ₃ ⁻	pH	HCO ₃ ⁻ nM/L	
Água Aerificada (P _{O₂} 125 mmHg) (N=5)	0.22	7.54	0.21	7.68	0.30	7.39
	(air)	± .06	.03	.07	.06	
	40.90	6.89	9.0	7.04	11.5	
	5.6% CO ₂)	± .05	.36	.04	.48	
Água Hipóxica (P _{O₂} 25 mmHg) (N=5)	0.22	8.19	1.24	8.37	1.88	7.41
		± .06	.17	.06	.05	
	40.90	7.18	16.1	7.21	17.3	
		± .02	.9	.04	1.4	

re retenção de CO_2 no grupo hipóxico apesar da oportunidade para trocas gasosas aquáticas. Em outras palavras, a troca gasosa deve ser reduzida ou ausente durante intervalos entre as vindas à superfície para obtenção de ar. Isto poderia resultar da ventilação branquial diminuída (como foi observado) ou da grande diminuição da perfusão branquial devida à vasoconstrição hipóxica (cf. Satchell, 1971). Uma outra implicação dos resultados, traduzida pelo nome de cascudo, é que a troca gasosa cutânea é insuficiente para evitar a retenção do CO_2 quando cessa a ventilação branquial. Isto pode também ser vantajoso para a prevenção de perdas cutâneas de O_2 do sangue para a água hipóxica.

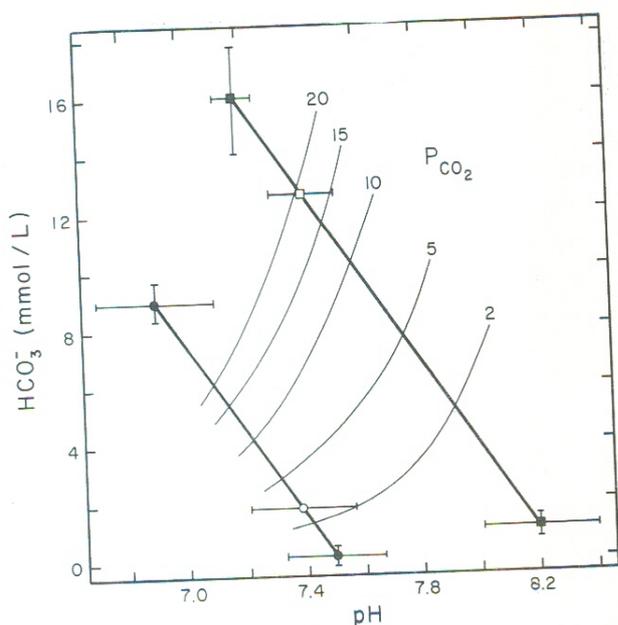


Fig. 1 — Curvas tampão para sangue oxigenado em grupos controle (círculos fechados) e grupos hipóxicos (quadrados fechados). O pH in vivo do sangue de punção cardíaca está indicado pelos símbolos abertos. (Veja o texto para discussão).

As capacidades tampão ($\Delta \text{HCO}_3^-/\Delta \text{pH}$) de 13,5 (controle) e 14,7 mmol/L/pH (hipóxica) são semelhantes àquelas relatadas para outras espécies amazônicas (Rahn & Garey, 1973). Entretanto, apesar de semelhantes inclinações tampão, é evidente na figura 1 que o grupo hipóxico tem uma reserva tampão mui-

to maior do que o grupo controle. Este nível mais alto de HCO_3^- poderia ser uma vantagem clara no tamponamento do ácido láctico ou outros ácidos metabólicos produzidos durante períodos apneicos (cf. Rahn & Garey, 1973).

O efeito da oxigenação na concentração do CO_2 no sangue (efeito Haldane) é medido pela diferença no CO_2 total (carbamino e bicarbonato) sob a $P_{\text{CO}_2} = 40$ mm Hg entre sangue completamente desoxigenado e completamente oxigenado (cf. Dejourns, 1975). Assim, o desvio nas curvas tampão (Tabela 1) é parcialmente explicado pelo efeito Haldane. O CO_2 total não foi medido no presente estudo, porém a mudança no bicarbonato do plasma resultante da oxigenação sob a $P_{\text{CO}_2} = 40,9$ foi 2,5 mmol/L para o grupo controle e 1,2 mmol/L para o grupo hipóxico (diferença não significativa). Para o sangue humano a 37°C , o efeito Haldane é em torno de 2,4 mmol/L (Dejourns, 1975).

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi apoiado pela bolsa PCM75-06451 da "National Science Foundation" para estudos a bordo do R/V "Alpha Helix". Agradecemos os brasileiros por sua ajuda e por tornar possível a entrada do R/V "Alpha Helix" no alto Amazonas. B.J.D. agradece o financiamento de viagem do Fundo Joseph Henry Marsh da National Academy of Sciences e da San Francisco State University.

SUMMARY

Armoured catfish (*Hypostomus* sp.) induced by hypoxic water to breathe air had the same blood pH (7.39 at 30°C) as fish kept in well-aerated water and relying solely on gill ventilation (pH 7.41). CO_2 retention occurred (P_{CO_2} increased from 3 to 20 torr) in the hypoxic group indicating reduced aquatic gas exchange, but it was fully compensated by an increase in plasma bicarbonate (from 2 to 13 mmol/L). This pattern of acid-base balance is similar to those found in previous interspecies comparisons of water and air-breathing vertebrates. The higher plasma bicarbonate of hypoxia-acclimated fish is believed to be beneficial in buffering metabolic acids produced by anaerobic metabolism.

BIBLIOGRAFIA

- DEJOURS, P.
1975 — **Principles of comparative respiratory Physiology**. Amsterdam, N. Holland Publishing. 50 p.
- ERASMUS, B.; HOWELL, B.J. & RAHN, H.
1970 — Ontogeny of acid-base balance in the bullfrog and chicken. *Respir. Physiol.*, 11:46-53.
- HOWELL, B.J.
1970 — Acid-base balance in transition from water breathing to air breathing. *Fed. Proc.*, 29:1130-1134.
- RAHN, H.
1967 — Gas transport from the external environment to the cell. In: **CIBA Foundation Symposium on Development of the Lung**. London, J. A. Churchill, pp. 3-23.
- RAHN, H. & BAUMGARDNER, F.W.
1972 — Temperature and acid-base regulation in fish. *Respir. Physiol.*, 14:171-182.
- RAHN, H. & GAREY, W.F.
1973 — Arterial CO₂, O₂, pH, and HCO₃⁻ values of ectotherms living in the Amazon. *Am. J. Physiol.*, 225:735-738.
- SATCHELL, G.H.
1971 — **Circulation in Fishes** Cambridge, Cambridge University Press, p. 93.
- SEVERINGHAUS, J.W.
1971 — Carbon dioxide solubility and first dissociation constant (pK') of carbonic acid in plasma and cerebrospinal fluid: Man. In: **Handbook of respiration and Circulation**. Bethesda, Fed. Am. Soc. Exp. Biol., pp. 218-219.
- TRUCHOT, J.P. 1973
1973 — Temperature and acid-base regulation in the shore crab *Carcinus maenas* (L.). *Respir. Physiol.*, 17:11-20.