

COMPORTAMENTO DO OXIGÊNIO INTRAMIOCÁRDIO DURANTE VARIAÇÕES DA RELAÇÃO OFERTA-CONSUMO DE OXIGÊNIO. I. EFEITO DOS BLOQUEADORES DE CÁLCIO

ANTONIO CARLOS CICOGNA *, PAULO J. F. TUCCI *, JOEL SPADARO *,
MARIA APARECIDA MARCHESAN RODRIGUES **, PAULO R. CURI ***,
PEDRO LUCCHIARI ****.

O comportamento da tensão de oxigênio intramiocárdico (PO M) e sua relação com a tensão de oxigênio do sangue do seio coronário (PO SC) foram estudados em cães anestesiados durante infusão de verapamil. As medidas das tensões de oxigênio foram feitas por meio do método polarográfico. Foram também registrados a pressão arterial e o fluxo coronário médio (FCM).

A infusão de verapamil acarretou queda da pressão sistólica aórtica de $10,1 \pm 28\%$ ($108 \pm 3,2$ para $97 \pm 3,5$ mmHg; $p < 0,01$), da pressão diastólica da aorta de $22 \pm 3,8\%$ ($92 \pm 5,6$ para $64 \pm 3,6$ mmHg; $p < 0,01$) e aumento da FCM de $34,7 \pm 9,1\%$ ($22 \pm 1,3$ para $29 \pm 3,7$ ml/minuto; $p < 0,01$). A droga elevou a PO M de $24,7 \pm 8,7\%$ e a PO SC de $42,8 \pm 17,0\%$. Não houve correlação significativa entre as variações da PO M e PO SC.

Concluiu-se que: 1) verapamil eleva a disponibilidade de oxigênio no músculo cardíaco; 2) em situações em que há aumento do oxigênio disponível em toda espessura da parede miocárdica, a PO SC e a PO M apresentam variações relativas no mesmo sentido.

Os bloqueadores de cálcio são largamente utilizados com a finalidade de reduzir a lesão da célula cardíaca associada à isquemia miocárdica. A ação benéfica dessas drogas está relacionada com alteração na relação entre oferta e consumo de oxigênio e para o tecido cardíaco.

Os dados da literatura acerca da ação dos antagonistas do cálcio, como o verapamil, sobre o comportamento do oxigênio miocárdico, fundamentam-se na avaliação do consumo de oxigênio pelo coração^{1,2}. Em se tratando de uma técnica que analisa a resultante final do balanço global entre oferta - consumo de oxigênio em todo o coração, esse método não possibilita a análise do comportamento do oxigênio (O₂) em regiões específicas do miocárdio. Em determinadas circunstâncias a relação oferta-consumo de oxigênio pode variar distintamente conforme se considere a região subendocárdica ou subepicárdica. Nessa situação, a avaliação regional se faz necessária, sendo realizada por meio da quantificação do teor de oxigênio intramiocárdio (PO M). Não existem referências na literatura sobre análises dos efeitos do verapamil na PO M.

A medida da PO M avalia a disponibilidade tecidual local de O₂ e indica, a resultante do balanço entre o fornecimento de O₂ pelo sangue que flui pelas artérias coronárias e o consumo de oxigênio pelo miocárdio. Por outro lado, como a medida da PO M é uma técnica laboriosa, vários autores³⁻⁵ utilizam o artifício de avaliar a tensão de oxigênio do sangue do seio coronário (PO SC) e consideram que essa medida reflete o que ocorre com a PO M. A validade dessa afirmativa ainda não foi definida. Fam e McGregord⁶ e Furuse e col.⁷ verificaram, em cães, comportamento semelhante da PO M e PO SC durante, respectivamente, aumento na oferta de oxigênio para o miocárdio e infusão de noradrenalina. Em contraposição, verifica-se na literatura que o uso da PO SC, como espelho do que ocorre com a PO M, pode superestimar os valores desta variável Brantigan e col.⁸ constataram que, após parada cardíaca, ocorria rápida elevação na PO SC e aumento lento e gradual da PO M, Schubert e col.⁹, elevando a pressão de perfusão coronária, encontraram elevação de 20% na PO SC, sem mudanças significativas nos valores médios da PO M.

*Professor-Adjunto - Departamento de Clínica Médica - Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP.

**Professor-Assistente - Departamento de Patologia - Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP.

***Professor-Adjunto - Serviço de Estatística e Computação - Faculdade de Medicina de Botucatu. - UNESP.

****Professor-Titular - Departamento de Biofísica - Instituto Básico de Biologia Médica e Agrícola - UNESP.

Este trabalho tem o propósito de analisar a influência do verapamil sobre o PO M. Dada a existência da controvérsia acerca da validade da PO SC, como indicador adequado da PO M, nesta investigação a PO SC foi avaliada e procurou-se analisar a correspondência entre as suas variações e aquelas observadas para a PO M. O método utilizado para medir as variações da tensão de oxigênio no selo coronário e no músculo cardíaco foi o polarográfico, desde que se mostrou sensível para detectar variações na concentração de oxigênio em diferentes órgãos, inclusive o coração¹⁰⁻¹⁴.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados 10 cães, pesando entre 15 e 19 Kg, anestesiados com cloridrato de morfina (2 mg/ Kg-IM) e pentobarbital sódico (20 mg/Kg-EV). Quando necessário, os animais recebiam dose suplementar de pentobarbital sódico. Os animais foram ventilados artificialmente com ar ambiente enriquecido com oxigênio puro, de modo a manter-se o pH do sangue arterial próximo de 7,34, pressão parcial de oxigênio (pO₂) de 100 mmHg e pressão parcial de dióxido de carbono (pCO₂) de 40 mmHg. Heparina foi administrada na dose inicial de 500 U/Kg e na dose da manutenção de 200U/Kg/hora.

Os animais foram submetidos a toracotomia médio-esternal; o pericárdio foi aberto e suas margens suturadas às bordas da incisão da parede torácica. A artéria coronária descendente anterior foi dissecada e reparada em seu terço médio. A colocação de sensor de fluxômetro eletromagnético (Biotronex -Laboratory modelo B1 610) ao redor da artéria coronária permitiu medir o fluxo coronário. A calibração do registro do débito coronário foi realizada com artérias isoladas de cães, com diâmetro ligeiramente superior ao diâmetro interno do transdutor, perfundida por gravidade, com sangue. Foi estabelecida a equação de regressão linear, entre o fluxo medido e a respectiva deflexão obtida no registro, através do método dos mínimos quadrados¹⁵. A pressão arterial foi medida na aorta ascendente, utilizando transdutor de pressão Statham P23A. Um cateter colocado na veia femoral foi utilizado como via de administração de fluidos e drogas.

As variações relativas da PO M foram medidas com elétronodo de 0,183 mm. de diâmetro, revestido com duas camadas de verniz isolante atóxico SM 1010 e uma película de adesivo instantâneo Super Bonder (Lactile Química Ltda). Uma das extremidades do fio da platina foi soldada ao condutor flexível de cobre. No local da solda foi fixada peça de acrílico, que tinha duas funções: permitir a fixação do elétronodo no miocárdio e determinar a profundidade atingida pela sua ponta (fig. 1). Imediatamente antes da implantação do elétronodo no coração removiam-se por raspagem com auxílio de lâmina de bisturi, 1 a 2 mm da camada isolante existente na extremidade

do elétronodo. O território onde seria implantado o elétronodo era lavado com solução de cloreto de sódio 09% e seco com jato de oxigênio. A seguir, aplicava-se o adesivo instantâneo Super Bonder na peça de acrílico e inseria-se o elétronodo perpendicularmente à superfície do miocárdio, na região irrigada pela artéria descendente anterior. O comprimento do elétronodo era dimensionado de tal forma, que a sua ponta se posicionasse na região subendocárdica. O elétronodo era mantido pressionado suavemente até a secagem da cola. Adicionalmente, suturava-se a peça de acrílico à parede ventricular por meio de fio prolene 6.0. A PO SC foi medida com elétronodo de platina de 1mm de diâmetro e 1 cm de comprimento, revestido em toda sua extensão por tubo capilar de vidro. Uma de suas extremidades foi soldada a cabo condutor de cobre, enquanto que a outra permaneceu exposta para a medida da PO₂. O elétronodo foi colocado a 3 cm da extremidade vedada de um tubo de polietileno de 3,5mm de diâmetro e 20 cm de comprimento. Na parede do cateter de polietileno, entre a extremidade ocluída e o elétronodo de platina, existiam vários orifícios que colocavam o meio externo em contacto com o interior do tubo. A extremidade livre do tubo de polietileno foi conectada a tubo T de vidro: um dos ramos, obstruído, permitia somente a passagem dos fios de cobre; o outro ramo foi conectado a outro tubo de polietileno que permitia a passagem de fluidos (fig. 2). O cateter foi introduzido, via átrio direito, no seio coronário, à profundidade de 2 a 3 cm. Uma bomba peristáltica aspirava o sangue do seio coronário e o impulsionava de forma que, após circular pelo tubo de polietileno, o sangue retornava para a veia jugular externa do animal. A bomba foi regulada para retirar 12 ml de sangue por minuto, desde que já se demonstrou que com esse fluxo não há contaminação do sangue do seio coronário pelo sangue do átrio direito¹⁶⁻¹⁸. Duas provas foram realizadas com a finalidade de testar a sensibilidade do elétronodo às variações da concentração de oxigênio: 1) "in vitro", observando se a resposta do elétronodo ao se borbulhar oxigênio na solução que o continha; 2) in vivo", verificando-se o comportamento do elétronodo após a sua implantação no miocárdio. Nessa situação, provocava-se diminuição da oferta de O₂ ao elétronodo por meio de oclusão das artérias coronárias. O elétronodo era considerado em condições de uso, desde que houvesse rápido decréscimo no registro da PO M durante a fase de oclusão coronária.²

O circuito polarográfico utilizado para medidas de PO₂ foi construído segundo Lucchiari¹⁹, tendo constante de tempo 1,1 segundo e precisão de medidas de 1 nanoampere ou 1 milivolt. Voltagem de polarização de -0,60 V foi aplicada entre os elétronodos utilizados para medir a PO₂ e o elétronodo de referência (Calomelano - Corning²476002). O fluxo de corrente (corrente de polarização) entre os dois elétronodos foi medido, digitalmente, no circuito polarográfico e registrado em polígrafo. Desde que a corrente de po-

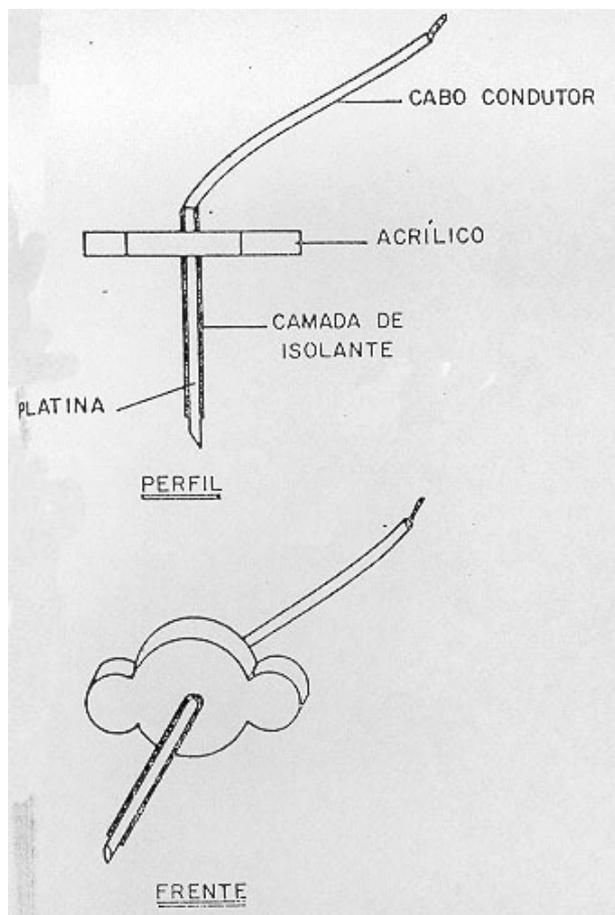


Fig. 1 - Eléctrodo utilizado para medir tensão de oxigênio intramiocárdio (PO M).

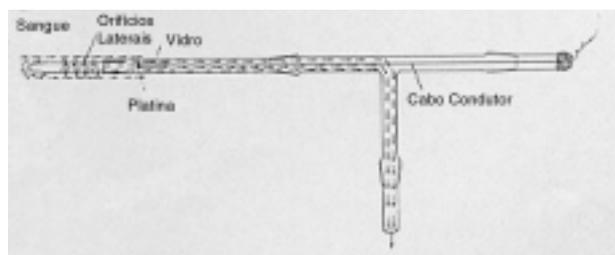


Fig. 2 - Eléctrodo utilizado para medir tensão de oxigênio do sangue do seio coronário (PO SC).

larização é diretamente proporcional à concentração de oxigênio^{12,20-23}, as variações relativas de corrente permitiram inferir as variações relativas de PO.

As variações estudadas (PO M, PO SC, pressão arterial e fluxo coronário médio) foram registradas, em polígrafo da Electronics for Medicine, modelo DR-8, com velocidade de transporte de papel de 1mm/s.

O comportamento simultâneo das variáveis foi estudado antes e após a infusão de 0,2 mg/Kg/EV de verapamil (Dilacorón, Knoll S/A Produtos Químicos e Farmacêuticos).

Após o término das experiências e sacrifícios dos animais, verificava-se a posição do cateter de polietileno

dentro do seio coronário. A seguir retirava-se uma cunha de miocárdio que abrangia a área de penetração do eléctrodo, para exame anátomo-patológico.

Os valores das variáveis estudadas são apresentadas sob a forma de média e desvio padrão da média. As modificações sofridas pelos atributos foram analisadas pelo teste de diferença média de dados emparelhados por meio da distribuição t. O nível de significância foi 0,05. A relação entre duas variáveis foi avaliada calculando-se o coeficiente de correlação linear. O nível de significância foi 0,10^{24,25}.

RESULTADOS

Exame anátomo-patológico - Na maioria dos casos, os cortes histológicos incluíram todo o trajeto intramural do eléctrodo. Na área correspondente ao trajeto e à ponta do eléctrodo foram verificados sinais discretos de compressão tecidual, degeneração e necrose de fibras miocárdicas, edema, discreta exsudação de hemácias, fibrina e leucócitos. Em três animais, ocorreu lesão hemorrágica intersticial difusa no trajeto do eléctrodo.

Influência da administração de verapamil - Na tabela I e nas figuras 3 e 4, estão expostos os resultados obtidos com a administração de verapamil. A droga acarretou diminuição da pressão sistólica atórtica de $10,1 \pm 28\%$ ($108 \pm 3,2$ para $97 \pm 3,5$ mmHg; $p < 0,01$), da pressão diastólica de $22 \pm 3,8\%$ ($92 \pm 5,6$ para 64 ± 36 mmHg; $p < 0,01$) e aumentou o fluxo coronário médio de $34,7 \pm 9,1\%$ ($22 \pm 1,3$ para $29 \pm 3,7$ ml/minuto; $p < 0,01$). O verapamil, elevou a PO M de $24,7 \pm 8,7\%$ e a PO SC de $42,8 \pm 17,0\%$.

Embora as variações relativas da PO M e da PO SC tivessem o mesmo sentido (tab. 1)² não ocorreu correlação significativa ($p < 0,10$) entre as alterações das mesmas após infusão da droga.

DISCUSSÃO

Levando-se em conta que é escasso o número de publicações que tratam do método polarográfico na literatura nacional, é oportuno tecer considerações sobre o método e sobre os cuidados a serem observados quando de sua utilização.

A interpretação das medidas da PO pelo método polarográfico requer o conhecimento das possíveis causas de erros, sistemáticos ou acidentais, que podem interferir nos resultados: a) coeficiente de difusão de O₂ nos tecidos; b) consumo de O₂ pelo eléctrodo; c) deposição² de proteínas ou reações químicas na superfície do eléctrodo; d) deslocamento da ponta do eléctrodo ou movimentação de fluidos em sua extremidade; e) dimensões do eléctrodo.

a) Coeficiente de difusão de O₂ nos tecidos - A corrente de polarização é diretamente² proporcional à PO e a constante de proporcionalidade entre estas

TABELA 1 - Efeito de infusão verapamil sobre as variáveis cardiocirculatórias

Cães	PSA/PDA		FCM		PO ₂ M	PO ₂ SC
	t ₀	t ₁	t ₀	t ₁	Δ ₁	Δ ₁
	mmHg		Ml/min		%	%
4	108/91	91/62	20	25	+13,2	+55,8
5	91/55	88/52	31	40	+25,0	+47,8
6	110/81	97/61	34	39	+9,4	+8,3
7	115/90	109/73	14	16	+40,0	+45,0
8	115/91	106/76	19	31	+59,0	+50,0
10	109/82	91/59	16	26	+2,1	+50,0
X	108/92	97/64	22	29	+24,7	+42,8
s _e	3,2/3,6	3,5/3,6	1,3	3,7	8,7	+7,0

PSA: pressão sistólica da aorta PDA. pressão diastólica da aorta, PO₂M: tensão de oxigênio intramiocárdico; PO₂SC: tensão de oxigênio do sangue do seio coronário; FCM: fluxo coronário médio; t₀: momento do registro dos parâmetros, imediatamente antes do início da infusão com verapamil; t₁: momento do registro dos parâmetros, após a infusão de verapamil; Δ₁: variação apresentada pelos parâmetros cardiocirculatórios entre t₁ e t₀; mmHg: milímetros de mercúrio; %: porcentagem de variação em relação ao valor inicial; ml/min: mililitros por minuto; X: média dos valores; s_e: desvio padrão da média.

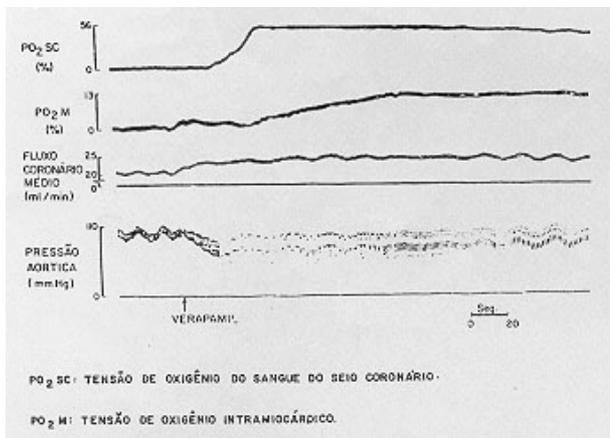


Fig. 3 - Registro representativo do efeito da infusão de verapamil sobre a tensão de oxigênio do sangue do seio coronário (PO₂SC), tensão de oxigênio intramiocárdio (PO₂M), fluxo coronário médio e pressão aórtica.

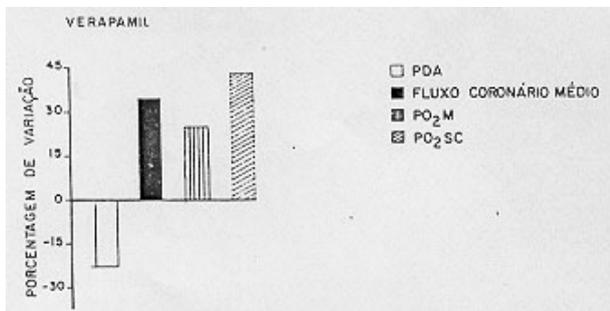


Fig. 4 - Variação relativa dos valores médios da pressão diastólica da aorta (PDA), fluxo coronário médio, tensão de oxigênio intramiocárdio (PO₂M) e tensão de oxigênio do sangue do seio coronário (PO₂SC) antes e após infusão de verapamil.

duas variáveis é influenciada pelo coeficiente de difusão do O₂ no meio. Isso implica que órgãos, com

diferentes coeficientes de difusão, apresentem valores diferentes de corrente de polarização mesmo sendo portadores de semelhantes concentrações de O₂.

Desde que a calibração dos elétrodos é realizada em soluções salinas, cujos coeficientes de difusão do oxigênio diferem daqueles apresentados pelos tecidos onde se procura medir a PO₂, é difícil a quantificação correta da PO₂ tecidual em valores absolutos. Entretanto, quando se utilizam as variações relativas da corrente de polarização e da PO₂ tecidual já foi demonstrado que existe correlação linear entre essas variáveis²⁶.

Como no presente trabalho os valores da corrente de polarização foram expressos em números relativos, é admissível que suas variações tenham marcado corretamente as modificações relativas da PO₂M e da PO₂SC.

b) Consumo de oxigênio pelos elétrodos - O O₂ reage com a superfície da platina com uma velocidade superior àquela com que o O₂ se difunde pelo tecido em direção ao elétrodo²⁰⁻²². Desse modo, sendo o consumo pela platina superior à quantidade de O₂ que chega ao elétrodo, o valor da PO₂ tecidual próximo à platina será inferior ao encontrado no restante do órgão¹². Estima-se que, em tecidos metabolicamente menos ativos, o consumo de O₂ pelo elétrodo é inferior a 1,5%²⁷. Winbury e col.²⁸ demonstraram que o consumo de O₂ pelo elétrodo é menos importante em medidas realizadas em tecidos com metabolismo mais acentuado, como é o caso do coração.

Em razão dessas informações não cremos que o consumo de O₂ pelos elétrodos utilizados neste experimento possa ter interferido nos resultados obtidos.

c) Deposição de proteínas ou reações químicas na superfície do elétrodo - Esses fatores, também denominados fenômenos de envenenamento, alteram as medidas de PO₂, acarretando queda progressiva na corrente de polarização, mesmo mantendo-se constante a PO₂ do meio^{12,20,28,29}. Em líquidos como o sangue, que contém alta porcentagem de proteínas a corrente de polarização diminui com o decorrer da horas, atingindo valores que representam pequena fração da grandeza inicial³⁰.

Não há condições, neste experimento, de se verificar a ocorrência do fenômeno de envenenamento, desde que os elétrodos não foram calibrados antes e após os experimentos. Todavia, se consideramos que o tempo entre duas ou três medidas não superou poucos minutos, podemos admitir que os dados obtidos não devem ter sido afetados pelo fenômeno em discussão.

d) Deslocamento da ponta do elétrodo movimentação de líquidos na sua extremidade - Esses fenômenos acarretam aumento na corrente de polarização resultando na leitura de valores que superestimam a verdadeira PO₂ existente no meio^{12,27,29,31}. Neste experimento, o deslocamento do elétrodo intra-

miocárdico foi minimizado utilizando-se técnica adequada de fixação do elétron na parede ventricular. A influência indevida das variações do fluxo sanguíneo do seio coronário sobre a ponta do elétron foi contornada com a utilização de bomba peristáltica que retirava o sangue do seio coronário com fluxo constante.

e) Dimensões do elétron - As dimensões do elétron utilizado influenciam, "in vitro" as medidas da PO₂ do tecido. Enquanto os microelementos (1 a 3 micrômetros de diâmetro) são utilizados para medidas de PO₂ intracelular³², elétrons com dimensões próximas às do empregado neste trabalho medem a PO₂ do líquido intersticial que é resultante dos valores encontrados nas células, substâncias intersticiais e vasos sanguíneos³³.

A implantação de elétrons pode provocar lesões teciduais que influenciam a medida da PO₂. Desde que, na presente investigação, foram utilizados elétrons com diâmetros relativamente grandes (180 crômetros), houve preocupação em avaliar a influência da lesão tecidual sobre os valores da PO₂. Em tecidos ricamente vascularizados como fígado, rim e baço, a implantação de elétrons com 300 micrômetros de diâmetro pode acarretar lesões teciduais importantes³⁴. Em órgãos menos friáveis como o coração tem-se observado que elétrons com 250 micra de diâmetro provocam pequena injúria, consistente de trauma celular e hemorragia na área adjacente à ponta do elétron^{12,35}. As lesões miocárdicas constatadas neste experimento foram semelhantes às descritas por Moss¹² e Rink³⁵. Somente em três cães verificou-se hemorragia intersticial no trajeto do elétron. Essa ocorrência poderia superestimar as medidas da PO₂. Esses animais foram utilizados em razão da medida da PO₂ ter sido feita em valores relativos e ter sido verificada rápida queda da PO₂M durante o teste de sensibilidade com oclusão coronária. Essa resposta do elétron sugeriu que a microcirculação, nas vizinhanças da ponta do elétron, estava intacta e funcionalmente conservada.

A influência desses cinco fatores discutidos anteriormente, que podem interferir indevidamente na quantificação da PO₂ tecidual, foi considerada por Gamble e col.²⁹ Esses autores, com a finalidade de examinar a influência das causas dos erros sobre as medidas da PO₂ efetuadas pelo método polarográfico, provocaram mudanças abruptas na pressão desenvolvida pelo ventrículo esquerdo de cães e mediram a PO₂ subendocárdica pela polarografia e pela técnica de oximetria de reflexão microscópica. Os resultados obtidos foram semelhantes, o que sugere que a polarografia pode ser utilizada com segurança na medida da PO₂ miocárdica.

As ações eletrofisiológicas e hemodinâmicas do verapamil estão relacionadas com o bloqueio da passagem dos íons cálcio através dos canais lentos da membrana celular cardíaca e musculatura lisa arterial. Esta ação acarreta redução do inotropismo e da

frequência cardíaca, da pressão arterial, do débito cardíaco, do consumo de oxigênio e aumento do fluxo coronário^{2,36-39}.

Neste experimento, a infusão de verapamil promoveu queda da pressão arterial, aumento do fluxo coronário e dos valores médios da PO₂M e PO₂SC.

O comportamento da PO₂M pode ser explicada pela ação do verapamil sobre o fluxo coronário e fatores reguladores do consumo de oxigênio pelo miocárdio: frequência de batimentos, tensão parietal e estado inotrópico. O verapamil promove depressão das variáveis referidas, com conseqüente diminuição do consumo de oxigênio; paralelamente, a droga eleva o débito coronário. A combinação dessas ações acarreta aumento no oxigênio disponível intramiocárdico, isto é, da PO₂M. Embora não encontrássemos outras referências sobre o efeito do verapamil sobre a PO₂ da região subendocárdica e/ou superepicárdica, acreditamos que a droga promova elevação da PO₂ em toda espessura da parede ventricular: essa maior quantidade de oxigênio disponível no miocárdio é transportada pelo sangue do seio coronário, o que acarreta aumento na PO₂SC. Entretanto, a elevação na PO₂SC não se correlacionou significativamente com o aumento da PO₂M.

Em resumo, os resultados desta investigação permitem inferir que: 1) os bloqueadores de cálcio elevam a disponibilidade de oxigênio miocárdico; 2) em situações que aumentam o suprimento de oxigênio para toda parede cardíaca a PO₂SC e a PO₂M desviam-se no mesmo sentido; entretanto, dado que suas variações relativas podem não se equivaler, a PO₂SC deve ser utilizada com reservas para quantificações da PO₂ intramiocárdica.

SUMMARY

Myocardial oxygen tension (PO₂M) levels and its relation to oxygen tension of the coronary sinus blood (PO₂SC) were studied in anesthetized open chest dogs during intravenous infusion of verapamil. Oxygen tension was measured by polarographic methods. Arterial pressure and mean coronary blood flow were also recorded. Verapamil infusion decreased the arterial pressure and increased the coronary blood flow. The drug also increased the values of PO₂SC. These findings allow the following interpretations: 1) calcium blockers elevates the myocardial oxygen tension; 2) maneuvers which can promote increases of the oxygen supply within the entire myocardial wall also promote the PO₂SC and PO₂M in a same direction.

REFERÊNCIAS

1. Nayler, W. G.; Szeto, J. - Effect of verapamil on contractility, oxygen utilization and calcium exchangeability in mammalian heart muscle. *Cardiovasc. Res.* 6: 120, 1972.
2. Talano, J. V.; Feerst, D. - Verapamil - A new class of antiarrhythmic agents with a variety of beneficial cardiovascular effects. *Arch. intern. Med.* 140: 314, 1980.

3. Lammerant, J.; Bessel, I. - Effects of oxygen inhalation on the coronary venous oxygen tension in the anaesthetized intact dog under normal conditions, after autonomic blockade and during an infusion of adenosine. *Arch. int. Pharmacodyn.* 209: 378, 1974.
4. Hamilton, F. N.; Feigl, E. O. - Coronary vascular sympathetic betareceptor innervation. *Am. J. Physiol.* 230: 1569, 1976.
5. Powell, J. R.; Feigl, E. O. - Carotid sinus reflex coronary vasoconstriction during controlled myocardial oxygen metabolism in the dog. *Circ. Res.* 44: 44, 1979.
6. Fam, W. M.; McGregor, M. - In: Harcher, D., ed. - *Cardiovascular and Respiratory Effects of Hypoxia*. Basel, Karger 1966. apud McGregor, M.; Fam, W. M. - Regulation of coronary blood flow. *Bull N.Y. Acad. Med.* 42: 940, 1966.
7. Furuse, A.; Brawley, R. K.; Gott, V. L. - Effects of isoproterenol, l-norepinephrine, and glucagon on myocardial gas tension in animals with coronary artery stenosis. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 65: 815, 1973.
8. Brantigan, J. W.; Perna, A. M.; Gardner, T. J.; Gott, V. L. - Intramyocardial gas tensions in the canine heart during anoxic arrest. *Surg. Gynec. Obstet.* 134: 67, 1972.
9. Schubert, R. W. Whalen, W. J.; Nair, P. - Myocardial PO₂ distribution: relationship to coronary autoregulation. *Am. J. Physiol.* 234: H361, 1978.
10. Montgomery, H.; Horwitz, O. - Oxygen tension of tissues by the polarographic method. I. Introduction: oxygen tension and blood flow of the skin of human extremities. *J. clin. Invest* 29: 1120, 1960.
11. Sayen, J. J.; Katcher, A. H.; Sheldon, W. P.; Gilbert Jr., C. M. - The effect of levarterenol on polarographic myocardial oxygen, the epicardial electrocardiogram and contraction. *Circ. Res.* 8: 109, 1960.
12. Moss, A. J. - Intramyocardial oxygen tension. *Cardiovasc. Res.* 3: 314, 1968.
13. Norton, J. M.; Rand, P. W. - Chronically implanted tissue oxygen electrodes in rabbit. *J. appl. Physiol.* 36: 118, 1974.
14. Lucchiari, P. H.; Peofiloff, E. F.; Boscardim, A. T.; Bacila, M. - A technique for the determination of the available oxygen in living carp (*Cyprinus carpio*) muscle. *Comp. Biochem. Physiol.* 78A: 675, 1984.
15. Hoffmann, R.; Vieira, S. - *Análise de Regressão*. São Paulo, Hucitec - EDUSP, 1977, p. 339.
16. Koberstein, R. C.; Pittman, D. C.; Klocke F. J. - Right atrial admixture in coronary venous blood. *Am. J. Physiol* 216: 531, 1969.
17. Feigl, E. O. - Control of myocardial oxygen tension by sympathetic coronary vasoconstriction in the dog. *Circ. Res.* 37: 88, 1975.
18. Mohrman, D. E.; Feigl, E. O. - Competition between sympathetic vasoconstriction and metabolic vasodilation in the canine coronary circulation. *Circ. Res.* 42, 1978.
19. Lucchiari, P. H. - Circuito polarográfico potimizado para determinação de níveis do oxigênio intracerebral de rato. Botucatu, 1978. 77 p. (Tese apresentada ao Instituto Básico de Biologia Médica, e Agrícola do Campus de Botucatu da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho").
20. Connelly, C. M. - Methods for measuring tissue oxygen tension: theory and evaluation: the oxygen electrode. *Fed. Proc.* 16: 681, 1957.
21. Kreuzer, F.; Kessler, J. C. G. Method of polarographic in vivo continuous recording of blood oxygen tension. *Scienc* 128: 1005, 1958.
22. Whalen, W. J.; Riley, J.; Nair, P. - A microelectrode for measuring intracellular Po₂. *J. Appl. Physiol.* 23: 1967.
23. Kolmer, H. H. B.; Kreuzer, F. - Continuous polarographic recording of oxygen pressure in respiratory air. *Resp. Physiol* 4: 107, 1968.
24. Cochran, W. G.; Cox, G. M. - *Experimental Designs*. 2nd ed London, John Wiley, 1957. P. 661.
25. Glantz, S. A. - *Biostatistics: How to detect, correct and prevent errors in the medical literature* Circulation, 61:1. 1980.
26. Fatt, I. - An ultramicro oxygen electrode. *J. Appl. Physiol.* 19: 326, 1964.
27. Cater, D. B. - Oxygen tension and oxidation-reduction potentials in living tissues. *Prog. Biophys.* 10: 154, 1960.
28. Winbury, M. M.; Howe, B. B.; Weiss, H. R. - Effect of nitroglycerin and dipyridamole on epicardial and endocardial oxygen tension-further evidence for redistribution of myocardial blood flow. *J. Pharmac. Exp. Ther.* 176: 184, 1971
29. Gamble, W. J.; Lafarge, C. G.; Fyler, D. C.; Weisul, J. Monroe, R. G. - Regional coronary venous oxygen saturation and myocardial oxygen tension following abrupt changes in ventricular pressure in the isolated dog heart. *Circ. Res.* 34: 672, 1974.
30. Davies, P. W. - The oxygen cathode. In: Nastuk, W. L., ed. - *Physical Techniques in Biological Research*. Now York, Academic Press, 1961. p. 137.
31. Monroe, R. G.; Gamble, W. J.; LaFarge, C. G.; Benoualid, H.; Weisul, J. - Transmural coronary venous O₂ saturations in normal and isolated hearts. *Am. J. Physiol.* 228: 318, 1975.
32. Whalen, W. J. - Intracellular PO₂ in heart and skeletal muscle. *Physiologist Lond.* 14. 69, 1971.²
33. Hoffman, J. I. E.; Buckberg, G. D. - Transmural variations in myocardial perfusion. *Prog. Cardiol.* 5: 37, 1976.
34. Jamieson, D.; Van Den Brenk, H. A. S. - Electrode size and tissue PO₂ measurement in rats exposed to air or high pressure oxygen. *J. Appl. Physiol.* 20: 514, 1965.
35. Rink, R. D. - The acute effects of nicotine, tobacco smoke and carbon monoxide on myocardial oxygen tension in the anaesthetized cat. *Br. J. Pharmacol.* 62: 591, 1978.
36. Angus, J. A.; Richmond, D. R.; Dhumma-Upakorn, P.; Cobbin L. B.; Goodman, A. H. - Cardiovascular action of verapamil in the dog with particular reference to myocardial contractility and atrioventricular conduction. *Cardiovasc. Res.* 10: 623, 1976.
37. Newman, R. K.; Bishop, V. S.; Peterson, D. F.; Leroux, E. J.; Horwitz, L. D. - Effect of verapamil on left ventricular performance in conscious dogs. *J. Pharmac. Exp. Ther.* 201: 723, 1977.
38. Singh, B. N.; Ellrodt, G.; Peter, C. T. - Verapamil: a review of its pharmacological properties and therapeutic use. *Drugs*, 15: 169, 1978.
39. Sing, B. N.; Phil, D.; Roche, A. H. G. - Effects of intravenous verapamil on hemodynamics in patients with disease. *Am. Heart. J.* 94: 593, 1977.