

Cadernos do GEEvH

http://geevh.jimdo.com/cadernos-do-geevh/

ARTIGO ORIGINAL

Parto, morte e massa óssea na Colecção de Esqueletos Identificados do Museu Antropológico da Universidade de Coimbra (Portugal): alguns avanços preliminares

Francisco Curate*^{1,2}, João Pedroso de Lima³, Anabela Albuquerque³, Izilda Ferreira³, Joana Correia³, Eugénia Cunha^{2,4}

Artigo recebido a 23 de Março de 2012 e aceite a 09 de Maio de 2012

RESUMO

Neste trabalho pretende-se testar a hipótese de que o período gestacional se encontra relacionado com o decréscimo da massa óssea em mulheres que faleceram durante a sua idade reprodutiva. Desse modo, avaliaram-se alguns parâmetros da massa óssea, através da radiogrametria do segundo metacárpico e da densitometria no fémur proximal, numa amostra feminina da Colecção de Esqueletos Identificados da Universidade de Coimbra. Os valores médios do Índice Cortical do segundo metacárpico (IC) e de densidade mineral óssea (DMO) em diferentes regiões do fémur proximal observados em mulheres que morreram devido a complicações relacionadas com o parto (*ICD-10: 15*; N=4) e em mulheres que morreram devido a outras causas (N=24) são similares. O IC é de 50,4 (DP=14,37; 95%CI 27,51 – 73,23) nas mulheres que faleceram devido a complicações puerperais, e é de 54,47 (DP=9,48; 95% CI: 50,47 – 58,48) nas restantes. A DMO na região do «colo» do fémur (*ICD-10: 15*: 0,843; DP=0,15; 95%CI: 0,611 – 1,075/ Outras

¹Centro de Investigação em Antropologia e Saúde – Universidade de Coimbra, Portugal

² Centro de Ciências Forenses – Instituto Nacional de Medicina Legal, IP, Portugal

³ Serviço de Medicina Nuclear – Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Portugal

⁴ Departamento de Ciências da Vida – Universidade de Coimbra, Portugal

^{*}fcurate@uc.pt

causas de morte: 0,826; DP=0,11; 95% CI: 0,778-0,873) é, também, muito semelhante nos dois grupos. Embora a amostra seja pequena, os resultados sugerem que a gravidez poderá não influenciar decisivamente a massa óssea em mulheres jovens amostradas em contexto arqueológico.

Palavras-chave: morte materna, densidade mineral óssea, índice cortical, paleopatologia, Coimbra

ABSTRACT

The purpose of this study is to test the hypothesis that the gestational period is related to the decrease of bone mass in women who have died during their reproductive age. Thus, cortical and densitometric parameters of bone mass were evaluated in a female sample from the Identified Skeletal Collection of the University of Coimbra. The average values of the cortical index of the second metacarpal (CI) and bone mineral density (BMD) in the neck of the femur observed in women who died due to complications related to childbirth (ICD-10: 15; N = 4) and women who have died due to other causes (N = 24) are similar. Mean CI in women who have died due to puerperal complications is 50.4 (DP = 14.37; 95% CI 27.51 - 73.23); in the other women is 54.47 (SD = 9.48; 95% CI: 50.47 - 58.48). BMD in the «neck» of the femur (ICD-10: 15: 0.843; SD = 0.15; 95% CI: 0.611 - 1.075 / Other causes of death: 0.826; DP = 0.11; 95% CI: 0.778) is also very similar in the two groups. Although the sample is small, the results suggest that pregnancy may not conclusively affect bone mass in young skeletal women from archaeological contexts.

Keywords: maternal death; bone mineral density, cortical index, paleopathology, Coimbra

Introdução

A gravidez e o aleitamento representam, em teoria, um papel importante manutenção óssea feminina, já que durante os períodos de gestação e amamentação se observa uma transferência substancial de cálcio entre a mãe e o feto ou nascituro (Henderson et al., 2000; Agarwal e Stuart-Macadam, 2003). A homeostase cálcica materna é afectada sobretudo no último trimestre da gravidez, quando o esqueleto do feto se torna mais mineralizado; e também durante o ciclo ulterior de lactação, quando as necessidades de cálcio ultrapassam aquelas registadas durante a gestação. Contudo, existe no organismo materno um mecanismo hormonal de regulação que contraria a perda de massa óssea durante os períodos de gestação e aleitamento, retendo o excesso de cálcio na circulação sanguínea (Agarwal e Stuart-Macadam, 2003; Wieland et al., 1980). A gravidez parece ser um período biologicamente activo no que se refere à remodelação óssea (Black et al., 2000. Naylor et al., 2000) e tem sido apontada como um possível factor de risco na progressão da osteoporose (Agarwal, 2008; Agarwal e Stuart-Macadam, 2003). Algumas investigações em contexto clínico sugerem uma relação entre o número de

partos de uma mulher (paridade) e a sua densidade mineral óssea (DMO). Todavia, os resultados apresentados em estudos prospectivos e retrospectivos são inconsistentes e discordantes. Algumas análises epidemiológicas sugerem aumento da massa óssea relacionada com o número de partos (Henderson et al., 2000; Cure-Cure *et al.*, 2002). Outras não encontram qualquer associação entre o número de filhos gerados durante a vida de uma mulher e a massa óssea desta (Jones e Scott, 1999; Kojima et al., 2003). Por fim, outros estudos salientam o decréscimo da DMO associado à paridade (Kritz-Silverstein et al., 1992).

A noção empírica de que a massa óssea é influenciada por uma multitude de factores, entre os quais os correlatos fisiológicos do cálcio associados à aleitação, pode ser tomada como axiomática (Agarwal, 2008; Agarwal e Stuart-Macadam, 2003; Kojima et al., 2003). Durante a amamentação o esqueleto materno perde cálcio através do leite (Kojima et al., 2003). A amenorreia vinculada ao aleitamento contribui, também, para a perda de osso. Dessa forma, a DMO modificar-se neste período de requerimentos potenciais e iterados de cálcio.

A massa óssea reduzida em mulheres jovens, provenientes de diversos contextos arqueológicos, é por vezes interpretada como a consequência de *stress* relacionado com a gravidez e aleitamento (Agarwal, 2008; Agarwal *e* Stuart-Macadam, 2003; Armelagos *et al.*, 1972; Martin *et al.*, 1984; Martin *et al.*, 1985; Poulsen *et al.*, 2001; Turner-Walker *et al.*, 2001). Neste trabalho pretende-se testar

a hipótese de que a gravidez se encontra ligada a valores reduzidos de massa óssea em mulheres que morreram durante a sua idade reprodutiva. Desse modo, a massa óssea cortical no segundo metacárpico e a DMO no colo do fémur foram cotejadas em mulheres iovens (da Colecção de Esqueletos Identificados do Museu antropológico da Universidade de Coimbra) que morreram na decorrência de complicações puerperais e mulheres de idade similar que faleceram por outros motivos.

Materiais e Métodos

A Colecção de Esqueletos Identificados do Museu Antropológico da Universidade de Coimbra (CEIMA) é formada por 505 indivíduos de ambos os sexos, com idades à morte compreendidas entre os sete e os 96 anos. Foi constituída, quase na íntegra, pelo professor Eusébio Tamagnini entre 1915 e 1942. Todos os indivíduos que compõem a colecção nasceram entre 1822 e 1921, e faleceram entre 1904 e 1936 (Santos, 2000). Para mais informações sobre a CEIMA consultar Areia e Rocha (1985), Rocha (1995), Santos (2000) e Curate (2011).

A amostra estudada era composta por 28 indivíduos do sexo feminino, com idades à altura da morte entre os 21 e os 39 anos. Quatro mulheres morreram devido a doenças relacionadas com a gestação, parto e puerpério (ICD-10: 15): um caso de infecção puerperal, um caso de parto distócico, um caso de rotura do útero com feto macerado e um caso de placenta prévia (esta incrementa o risco de sépsis puerperal e de hemorragia

pós-parto). Estas mortes enquadram-se na definição de Mortalidade Maternal da *International Classification of Diseases*, isto é, a morte de uma mulher durante a gestação ou até 40 dias após o seu término, devido a uma causa relacionada ou agravada pela gravidez ou pelos procedimentos clínicos relacionados com esta (WHO, 1994). As restantes faleceram por outros motivos (Tabela 1). As mulheres que morreram

devido a complicações puerperais possuíam uma idade à morte média de 33,0 anos (DP=2,6). As outras faleceram, em média, com 29,0 anos (DP=6,0). A diferença não é significativa (Student's t: -1,292; df=26; p=0,208). Todas as mulheres da amostra trabalhavam como domésticas ou criadas de servir e provinham, maioritariamente, da região Centro de Portugal.

Tabela 1: Causas de morte (ICD-10) das mulheres da amostra estudada.

N (%)	Causa de Morte: International Classification of Diseases 10						
6 (21,4)	1: Certas doenças infecciosas e parasíticas						
3 (10,7)	2: Neoplasias						
1 (3,6)	3: Doenças do sangue, dos órgãos hematopoéticos e alguns transtornos imunitários						
1 (3,6)	9: Doenças do sistema circulatório						
3 (10,7)	10: Doenças do sistema respiratório						
7 (25,0)	11: Doenças do sistema digestivo						
1 (3,6)	14: Doenças do sistema geniturinário						
4 (14,3)	15: Gestação, parto e puerpério						
2 (7,1)	19: Lesões, envenenamentos e outras consequências de causas externas						

Os parâmetros radiogramétricos do segundo metacárpico (Largura Total da Diáfise, Largura da Cavidade Medular e Índice Cortical, ver Tabela 2) foram obtidos através de radiografias digitais. As radiografias foram realizadas no Serviço de Imagiologia do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra num sistema radiográfico digital Senographe DS (GE Healthcare). A uma distância focal de 50cm, as constantes foram Kv 27-30 e mAseg 14-20, de acordo com as características dos ossos.

A avaliação densitométrica foi realizada num densitómetro Hologic QDR 4500C Elite, no Serviço de Medicina Nuclear do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Os fémures (lateralidade: esquerda) foram depostos num recipiente cartonado de baixa densidade, sobre 10cm de arroz, em posição ântero-posterior e com a diáfise paralela ao eixo central do *scanner*. A densidade do arroz é comparável à dos tecidos moles, pelo que o cereal serviu como substituto destes (McEwan *et al.*, 2004). Em cada exame mensurou-se a área óssea (cm²), o conteúdo mineral ósseo (CMO, g) e a densidade

mineral óssea (DMO, g/cm²) em uma região de interesse (ROI) do fémur proximal: o «colo».

Os dados foram analisados com o SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), versão 17.0. A normalidade da distribuição das variáveis quantitativas foi avaliada através do teste de Shapiro-Wilk. A variável Índice Cortical (IC) não exibia uma distribuição normal. As diferenças entre as médias foram avaliadas com o teste de Student para amostras independentes. Exceptuam-se as médias da variável IC, que foram avaliadas com o teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

Tabela 2: Definições das medições e cálculos na radiogrametria do segundo metacárpico (de acordo com Ives *e* Brickley, 2004).

	Definição				
Comprimento (mm)	Medido desde o <i>capitulum</i> até à sela da base				
Meio da diáfise	O comprimento é dividido em dois: este é o ponto de medição				
Largura total da diáfise (mm)	A medição é realizada a partir das margens periosteais				
Largura da cavidade medular (mm)	A medição é realizada a partir das margens endosteais				
Índice cortical (ICM)	\(\begin{align*} \text{Largura total da diáfise - Largura do canal medular} \) \text{\text{Largura total da diáfise}} \\ \text{Largura total da diáfise} \end{align*}				

Resultados

As mulheres da amostra que faleceram devido a complicações relacionadas com o parto (Grupo 15 da nomenclatura ICD-10)

possuem, em média, valores ligeiramente menores de IC relativamente a outras mulheres, de idade comparável, que morreram devido a outras causas. Todavia, a diferença entre os grupos não é significativa do ponto de vista estatístico (Mann-Whitney U=36,000, p=0,431). Nos outros parâmetros corticais (LTD e LCM) as diferenças também não são significativas (LTD: Student's t: -0,268; df=26; p=0,791 / LCM: Student's t: -0,550; df=26; p=0,613). A estatística descritiva resume-se na Tabela 3.

Os valores da DMO mensurados nas quatro ROI do fémur proximal são

semelhantes nas mulheres que morreram devido a complicações puerperais e nas mulheres, também em idade reprodutiva, que faleceram por outras razões (Tabela 4). A DMO avaliada na ROI «colo» é um pouco maior nas mulheres com morte relacionada com o parto. A diferença é, contudo, estatisticamente não significativa (Student's t: -0,268; df=26; p=0,791).

Tabela 3: Valores médios da LTD, da LCM e do ICM nas mortes relacionadas com o parto (CEIMA).

	Mortes relacionadas com o parto				Outras causas de morte			
	$\overline{\chi}$	DP	95%CI	N	$\overline{\chi}$	DP	95%CI	N
LTD	7,07	0,49	6,28-7,86	4	6,99	0,59	6,71-7,26	24
LCM	3,51	1,07	1,80-5,22	4	3,19	0,86	2,79-3,60	24
ICM	50,37	14,37	27,51-73,23	4	54,47	9,48	50,47-58,48	24

Tabela 4: Valores médios da DMO_{colo} nas mortes relacionadas com o parto (CEIMA).

	Mortes relacionadas com o parto				Outras causas de morte			
	$\overline{\chi}$	DP	95%CI	N	$\overline{\chi}$	DP	95%CI	N
DMO _{COLO}	0,843	0,15	0,611- 1,075	4	0,826	0,11	0,778-0,873	24

Discussão

Os valores médios dos parâmetros corticais (LTD, LCM e ICM) e densitométricos (ROI «colo») nas mulheres que morreram devido a complicações relacionadas com o

parto não são significativamente diferentes dos valores observados em mulheres, das mesmas categorias etárias, que faleceram devido a outras causas. A gravidez pode estar associada a uma diminuição transiente da massa óssea (Black *et al.*, 2000; Karlsson *et*

al., 2001; Sowers et al., 1998) mas os dos resultados diversos estudos conflituosos (Ulrich et al., 2003). dissociação entre a formação e reabsorção ósseas ocorre logo nos dois primeiros trimestres de gestação, mas a homeostase do cálcio materno é especialmente afectada no último trimestre de gestação, quando aumenta a mineralização do esqueleto do feto (Black et al., 2000; Naylor et al., 2000). No entanto, um mecanismo hormonal de regulação contraria a perda de massa óssea durante a gestação, retendo o excesso de cálcio em circulação (Wieland et al., 1980). Os níveis de estrogénio, progesterona e lactogénio placentário mantêm-se elevados durante o período gestacional. O corpo materno combate 0 incremento necessidades de cálcio durante a gravidez, estimulando a reabsorção óssea e a absorção intestinal de cálcio e coarctando a formação óssea, bem como a excreção urinária de cálcio (Kumar et al., 1980; Wieland et al., 1980).

A observação de uma massa óssea reduzida em mulheres em idade reprodutiva, populações oriundas de esqueléticas históricas, é por vezes interpretada num contexto de stress relacionado com a gravidez e aleitamento (Agarwal, 2008; Agarwal e Stuart-Macadam, 2003; Armelagos et al., 1972; Martin et al., 1984; Martin et al., 1985; Poulsen et al., 2001; Turner-Walker et al., 2001). No entanto, nem sempre se observa um pico de massa óssea menor, relativamente às populações de referência, nos grupos femininos de amostras esqueléticas (Curate, 2011; Mafart et al., 2008; Mays et al., 1998; Mays et al., 2006).

Por outro lado, alguns autores presumem que as mulheres estudadas (ou a maior parte delas) se encontravam grávidas, ou em período de aleitação, no momento da sua morte (e.g., Agarwal et al., 2004; Poulsen et al., 2001; Turner-Walker et al., 2001). De facto, as mortes devidas a complicações puerperais eram frequentes, mas parece ser necessário exprimir algo que deveria ser óbvio: mesmo no passado, a morte de uma fracção substancial das mulheres jovens não decorria de complicações durante a gravidez ou parto (Rodrigues, 2008; Rüttiman e Loesch, 2012). Para além disso, os estudos empíricos não comprovam inequivocamente que a massa óssea diminui sempre durante a gravidez (Namgung e Tsang, 2003; Sowers, 2007; Ulrich et al., 2003).

Isto dito – e remetendo para os resultados obtidos na amostra da Colecção **Esqueletos** Identificados do Museu Antropológico parece-nos que «interpretação reprodutiva» da baixa DMO em mulheres jovens provenientes contextos arqueológicos é redutora e não considera todos os parâmetros que influenciam a obtenção do pico de massa óssea na população feminina, como a genética, a nutrição ou a actividade física.

Conclusões

A comparação directa da DMO e do ICM numa amostra esquelética identificada entre mulheres que morreram devido a complicações relacionadas com o parto e mulheres que faleceram devido a outros motivos sugere que a gravidez pode não afectar decisivamente a massa óssea em

mulheres jovens provenientes de amostras esqueléticas. Evidentemente, a amostra é muito pequena, pelo que os resultados indicam apenas uma tendência. De qualquer modo, a muito difundida noção de que a massa óssea reduzida em mulheres jovens encontradas em contexto arqueológico é sempre devida ao stress na homeostase do cálcio provocado pela gravidez é redutora e abusiva: nem todas as mulheres jovens morriam de parto ou durante o período de aleitamento (é impossível, na maior parte dos casos, saber a causa de morte; logo, aconselha-se, mínimo, no alguma circunspecção na interpretação dos dados) e nem sempre a gravidez ou o aleitamento acarretam perdas significativas de massa óssea nas mulheres em período reprodutivo.

Agradecimentos

Fundação para a Ciência e Tecnologia (PTDC/CS-ANT/120173/2010). Os autores gostariam de agradecer os comentários de um revisor anónimo.

Referências

Agarwal, S. 2008. Light and broken bones: examining and interpreting bone loss and osteoporosis in past populations. *In:* Katzenberg, A.; Saunders, S. (Eds.). Hoboken, NJ, John Wiley *e* Sons, *Biological Anthropology of the human skeleton*, pp. 387-410.

Agarwal, S.; Stuart-Macadam, P. 2003. An evolutionary and biocultural approach to understanding the effects of reproductive factors on the female skeleton. *In:* Agarwal, S.; Stout, S. (Eds.). *Bone loss and osteoporosis: an anthropological perspective.* New York, Kluwer Academic/Plenum Publishers: 105-119.

Armelagos, G.; Mielke, J.; Owen, K.; Vangerven, D.; Dewey, J.; Mahler, P. 1972. Bone growth and development in prehistoric populations from Sudanese Nubia. *Journal of Human Evolution*, 1: 89-119.

Areia, M.; Rocha, M. 1985. O ensino da Antropologia. *In: Cem anos de Antropologia em Coimbra, 1885-1985.* Coimbra, Museu e Laboratório Antropológico: 13-60.

Black, A.; Topping, J.; Durham, B.; Farquharson, R.; Fraser, W. 2000. A detailed assessment of alterations in bone turnover, calcium homeostasis, and bone density in normal pregnancy. *Journal of Bone and Mineral Research*, 15: 557-563.

Curate, F. 2011. O perímetro do declínio: osteoporose e fracturas osteoporóticas em três colecções osteológicas identificadas portuguesas — séculos XIX e XX. Tese de Doutoramento em Antropologia Biológica. Coimbra, Departamento de Ciências da Terra e da Vida, Universidade de Coimbra.

Cure-Cure, C.; Cure-Ramírez, P.; Terán, E.; López-Jaramillo, P. 2002. Bone-mass peak in multiparity and reduced risk of bone-fractures in menopause. *International Journal of Gynecology e Obstetrics*, 76: 285-291.

Henderson, P.; Sowers, M.; Kutzko, K.; Jannausch, M. 2000. Bone mineral density in grand multiparous women with extended lactation. *American Journal of Obstetrics e Gynecology*, 182: 1371-1377.

Ives, R.; Brickley, M. 2004. A procedural guide to metacarpal radiogrammetry in archaeology. *International Journal of Osteoarchaeology*, 14: 7-17.

Jones, G.; Scott, F. 1999. A cross-sectional study of smoking and bone mineral density in premenopausal parous women: effect of body mass index, breast feeding, and sports participation. *Journal of Bone and Mineral Research*, 14: 1628–1633.

Karlsson, C.; Obrant, K.J.; Karlsson, M. 2001. Pregnancy and lactation confer reversible bone loss in humans. *Osteoporosis International*, 12: 828-834.

Kojima, N.; Douchi, T.; Kosha, S.; Nagata, Y. 2002. Cross-sectional study of the effects of parturition and lactation on bone mineral density later in life. *Maturitas*, 41: 203-209.

Kritz-Silverstein, D.; Barrett-Connor, E.; Hollenbach, K. 1992. Pregnancy and lactation as determined of bone mineral density in postmenopausal women. *American Journal of Epidemiology*, 136: 1052–1059.

Kumar, R.; Cohen, W.; Epstein, F.; 1980. Vitamin D and calcium hormones in pregnancy. *New England Journal of Medicine*, 302:1143–1144.

Mafart, B.; Fulpin, J.; Chouc, P. 2008. Postmenopausal bone loss in human skeletal remains of a historical population of southeastern France. *Osteoporosis International*, 19: 381-382.

Martin, D.; Armelagos, G.; Goodman, A.; Van Gerven, D. 1984. The effects of socioeconomic change in prehistoric Africa: Sudanese Nubia as a case study. *In:* Cohen, M.; Armelagos, G. (Eds.). *Paleopathology at the origins of agriculture*. Orlando, Academic Press: 193–214.

Martin, D.; Goodman, A.; Armelagos, G. 1985. Skeletal pathologies as indicators of quality and quantity of diet. *In:* Gilbert, R.; Mielke, J. (Eds.). *The analysis of prehistoric diets*. New York, Academic Press: 227–279.

McEwan, J.M.; Mays, S.; Blake, G.M. 2004. Measurements of bone mineral density in the radius in a medieval population. *Calcified Tissue International*, 75: 157-161.

Mays, S.; Lees, B.; Stevenson, J. 1998. Age-dependent bone loss in the femur in a medieval population. *International Journal of Osteoarchaeology*, 8: 97-106.

Mays, S.; Turner-Walker, G.; Syversen, U. 2006. Osteoporosis in a population from medieval Norway. *American Journal of Physical Anthropology*, 131: 343-351.

Namgung, R.; Tsang, R. 2003. Bone in the pregnant mother and newborn at birth. *Clinica Chimica Acta*, 333: 1–11.

Naylor, K.; Iqbal, P.; Fledelius, C.; Fraser, R.; Eastell, R. 2000. The effect of pregnancy on bone density and bone turnover. *Journal of Bone and Mineral Research*, 15: 129-137.

Poulsen, L.; Qvesel, D.; Brixen, K.; Vesterby, A.; Boldsen, J. 2001. Low bone mineral density in the femoral neck of medieval women: a result of multiparity? *Bone*, 28: 454-458.

Rocha, M. 1995. Les collections ostéologiques humaines identifiées du Musée Anthropologique de l'Université de Coimbra. *Antropologia Portuguesa*, 13: 7-38.

Rodrigues, T. *História da população portuguesa: das longas permanências à conquista da modernidade*. Porto, CEPESE *e* Edições Afrontamento.

Rüttiman, D.; Loesch, S. 2012. Mortality and morbidity in the city of Bern, Switzerland, 1805–1815 with special emphasis on infant, child and maternal deaths. *Homo – Journal of Comparative Human Biology*, 53: 50-66.

Santos, A. 2000. A skeletal picture of tuberculosis. Macroscopic, radiological, and historical evidence from the Coimbra Identified Skeletal Collection. PhD Thesis in Anthropology. Coimbra, Department of Anthropology, University of Coimbra.

Sowers, M. 2007. Premenopausal reproductive and hormonal characteristics and the risk for osteoporosis. *In:* Marcus, R.; Feldman, D.; Nelson, D.; Rosen, C. (Eds.). *Osteoporosis*. San Diego, Academic Press: 861-885.

Turner-Walker, G.; Syversen, U.; Mays, S. 2001. The archaeology of osteoporosis. *European Journal of Archaeology*, 4: 263-269.

Ulrich, U.; Miller, P.; Eyre, D.; Chesnut, C.; Schlebusch, H.; Soules, M. 2003. Bone remodeling and bone mineral density during pregnancy. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 268: 309–316.

World Health Organization. 1994. *International classification* of diseases and related health problems. 10th revision. Geneva, WHO.

Wieland, P.; Fischer, J.; Trechsel, U. 1980. Perinatal parathyroid hormone, vitamin D metabolites and calcitonin in man. *American Journal of Physiology*, 239: 385-390.