

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS ANIMALES



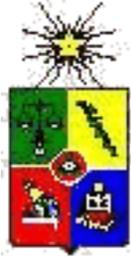
RESPUESTA CARDIOVASCULAR A LA HIPOXEMIA
AGUDA SOBREGREGADA EN FETOS DE OVEJA DE
GRANDES ALTITUDES CRÓNICAMENTE HIPÓXICOS

RODRIGO TOMÁS ROJAS CARRASCO

Memoria para optar al
Título Profesional de
Médico Veterinario

Profesor Guía: Dr. Aníbal J. Llanos Mansilla

SANTIAGO – CHILE
2009



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS ANIMALES



RESPUESTA CARDIOVASCULAR A LA HIPOXEMIA AGUDA SOBREGREGADA EN FETOS DE OVEJA DE GRANDES ALTITUDES CRÓNICAMENTE HIPÓXICOS

RODRIGO TOMÁS ROJAS CARRASCO

Memoria para optar al
Título Profesional de
Médico Veterinario

NOTA FINAL:

		NOTA	FIRMA
PROFESOR GUÍA	: ANIBAL J. LLANOS MANSILLA
PROFESOR CONSEJERO:	VICTOR H. PARRAGUEZ GAMBOA
PROFESOR CONSEJERO:	LUIS A. RAGGI

SANTIAGO, CHILE
2009

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Página
RESUMEN	
ABSTRACT	
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1) Adaptaciones a la vida intrauterina y respuesta fetal a la hipoxia	3
2.2) Respuesta cardiovascular fetal a la hipoxemia aguda	5
2.3) Regulación de la respuesta cardiovascular fetal a la hipoxemia aguda	7
2.3.1) Sistema nervioso simpático.....	7
2.3.2) Sistema endocrino	8
Arginina vasopresina	8
Angiotensina II	8
Cortisol y ACTH	9
Neuropéptido Y	10
2.3.3) Rol del endotelio en la respuesta cardiovascular fetal a la hipoxemia	10
2.4) Hipoxemia crónica	12
2.5) Respuesta fetal en modelos experimentales de hipoxemia crónica	14
3. HIPÓTESIS	19
4. OBJETIVO GENERAL	19
5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
6. MATERIALES Y MÉTODOS	21
6.1) Animales	21
6.2) Preparación Quirúrgica	21
6.2.1) Cateterización materna	21
6.2.2) Cateterización fetal	22
6.3) Protocolo experimental	24
6.4) Mediciones	24

6.4.1) pH y gases en sangre	24
6.4.2) Variables cardiovasculares	25
Flujos sanguíneos carotídeo y femoral fetales.....	25
Determinación del flujo sanguíneo de órganos fetales	25
Eutanasia y digestión de los órganos fetales	26
Determinación de la fluorescencia, cálculo del flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de O ₂ de los órganos fetales	26
6.4.4) Análisis estadístico	29
7. RESULTADOS	30
7.1) Peso corporal	30
7.2) Estado ácido base y gases arteriales	30
7.2.1) pH y gases arteriales fetales	30
7.2.2) pH y gases arteriales maternos	31
7.3) Respuesta cardiovascular fetal y materna.....	31
7.3.1) Presión arterial media y frecuencia cardíaca fetal	31
7.3.2) Flujo sanguíneo y resistencia vascular carotídea fetal	32
7.3.3) Flujo sanguíneo y resistencia vascular femoral fetal	32
7.3.4) Presión de líquido amniótico	33
7.4) Flujos sanguíneos, resistencia vascular y aporte de oxígeno a órganos fetales	33
7.4.1) Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno cerebral fetal	33
7.4.2) Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno de corazón fetal	34
7.4.3) Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno adrenal fetal	34

7.4.4) Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno renal fetal	35
7.4.5) Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno umbilical fetal	35
7.5) Variables cardiovasculares continuas maternas	36
8. DISCUSIÓN	47
8.1) Restricción de crecimiento corporal	47
8.2) pH y gases arteriales sanguíneos fetales y maternos	48
8.3) Variables cardiovasculares fetales continuas	50
8.3.1) Frecuencia cardíaca y Presión arterial media	50
8.3.2) Flujo sanguíneo y resistencia vascular carotídea y femoral	53
8.4) Flujos sanguíneos, resistencia vascular y aporte de oxígeno a órganos fetales	56
8.4.1) Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno cerebral, cardíaco y adrenal	56
8.4.2) Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno renal y umbilical	59
8.5) Variables cardiovasculares maternas	60
9. CONCLUSIÓN	62
10. BIBLIOGRAFÍA	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

<i>Figura 1: Frecuencia cardíaca y presión arterial media, en fetos ovinos de tierras altas y tierras bajas, durante hipoxemia aguda.....</i>	<i>38</i>
<i>Figura 2: Flujo sanguíneo y resistencia vascular carotídea, en fetos ovinos de tierras altas y de tierras bajas, durante hipoxemia aguda</i>	<i>39</i>
<i>Figura 3: Flujo sanguíneo y resistencia vascular femoral, en fetos ovinos de tierras altas y tierras bajas, durante hipoxemia aguda</i>	<i>40</i>
<i>Figura 4: Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno cerebral, en el feto ovino de tierras altas y tierras bajas, durante hipoxemia aguda</i>	<i>41</i>
<i>Figura 5: Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno al corazón, en el feto ovino de tierras altas y tierras bajas, durante hipoxemia aguda</i>	<i>42</i>
<i>Figura 6: Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno a las glándulas adrenales, en el feto ovino de tierras altas y tierras bajas, durante hipoxemia aguda</i>	<i>43</i>
<i>Figura 7: Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno renal, en el feto ovino de tierras altas y tierras bajas, durante hipoxemia aguda</i>	<i>44</i>

Figura 8: *Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno umbilical, en el feto ovino de tierras altas y tierras bajas, durante hipoxemia aguda*45

Figura 9: *Frecuencia cardíaca y presión arterial media sistémica, en ovejas preñadas de tierras altas y tierras bajas, durante hipoxemia aguda*46

ÍNDICE DE TABLAS

Página

Tabla 1. <i>Gases sanguíneos arteria carótida en fetos ovinos de tierras bajas y tierras altas, durante hipoxemia aguda</i>	37
Tabla 2. <i>Gases sanguíneos arteria femoral en madres ovinas de tierras bajas y tierras altas, durante hipoxemia aguda</i>	37

GLOSARIO

All : angiotensina II
AVP : arginina vasopresina
cGMP : guanilil monofosfato ciclico
CO : monóxido de carbono
Cont O₂ : contenido de oxígeno
DAG : diacil glicerol
DNA : ácido desoxirribonucleico
ESM : error estandar de la media
Ets : endotelinas
ET-1 : endotelina 1
FC : frecuencia cardíaca
Fi O₂ : fracción inspirada de oxígeno
FSC : flujo sanguíneo carotídeo
FSF : flujo sanguíneo femoral
GCVC : gasto cardíaco ventricular combinado
Hb : hemoglobina
[Hb] : concentración de hemoglobina
IP3 : inositol trifosfato
NO : óxido nítrico
NOS : óxido nítrico sintasa
NPY : neuropeptido Y
PAM : presión arterial media
P_aCO₂ : presión arterial de dióxido de carbono
P_aO₂ : presión arterial de oxígeno
PGI₂ : prostaciclina
PLA : presión líquido amniótico
PO₂ : presión de oxígeno

RCIU : restricción de crecimiento intra-uterino

RVC : resistencia vascular carotídea

RVF : resistencia vascular femoral

Sat Hb : % de saturación de hemoglobina

sGC : guanilato ciclasa soluble

TA : tierras altas

TB : tierras bajas

RESUMEN

La hipoxia crónica de altura, constituye una de las principales causas de hipoxemia fetal tanto en humanos como en animales. Fetos ovinos expuestos a hipoxemia crónica, al ser sometidos a un episodio de hipoxia aguda, mantienen su gasto cardíaco y la redistribución de los flujos sanguíneos hacia los órganos fetales. En base a los antecedentes recopilados, se propuso la siguiente hipótesis: *Los fetos ovinos de tierras altas, expuestos a hipoxemia crónica de altura durante toda su gestación, presentan una respuesta cardiovascular atenuada, frente a un episodio de hipoxemia aguda sobreagregada, en comparación con fetos ovinos de tierras bajas.* El objetivo general fue determinar la condición cardiovascular basal y la respuesta cardiovascular a un período de hipoxemia aguda sobreagregada, que presentan los fetos ovinos crónicamente hipóxicos por exposición a las grandes altitudes y comparar estos resultados con fetos ovinos normóxicos de tierras bajas. Se instalaron catéteres de polivinilo en la arteria femoral y carótida, y se instalaron medidores de flujo sanguíneo continuo alrededor de la arteria carótida y femoral, en 7 fetos ovinos de tierras altas (Putre, 3580 m.s.n.m.) y 8 fetos ovinos de tierras bajas (Santiago, 580 m.s.n.m.). A los 133 ± 3 días de gestación, se realizaron los protocolos experimentales de 3 horas de duración: 1 h basal, 1 h de hipoxemia y 1 hora de recuperación. Se determinaron gases sanguíneos arteriales, pH, saturación de Hb, concentración de Hb, presión arterial media, flujo sanguíneo y resistencia vascular carotídea y femoral, y frecuencia cardíaca. Además se determinó el flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de O₂ hacia el cerebro, corazón, adrenales, riñones y umbilical.

Durante hipoxemia aguda, la presión arterial media, el flujo sanguíneo carotídeo y femoral, y la resistencia vascular renal no se modificaron en los

fetos de tierras altas. Además en los fetos de tierras altas, el flujo sanguíneo cerebral, cardíaco y adrenal aumentaron, las resistencias vasculares disminuyeron y el flujo sanguíneo umbilical disminuyó, mientras que, el aporte de oxígeno cerebral y cardíaco no varió. En los fetos de tierras altas la presión arterial media no cambió durante el experimento, lo que podría deberse a la desensibilización de receptores adrenérgicos u otros mecanismos hormonales. En cambio, el nulo incremento del flujo sanguíneo carotídeo, durante hipoxemia aguda, se debió probablemente a la altitud, la cuál reduce la respuesta contráctil de las arterias carótidas. La menor vasoconstricción en las arterias femorales, en los fetos de tierras altas, podría deberse a una respuesta aumentada a NO, ya que, ovinos recién nacidos presentan una mayor sensibilidad a un dador de NO.

El incremento del flujo sanguíneo cerebral, cardíaco y adrenal en ambos grupos de fetos, podría ser atribuido al efecto del NO, ya que este es muy importante en la regulación del flujo sanguíneo cerebral y cardíaco. Además, arterias cerebrales de fetos ovinos sometidos a hipoxemia crónica, presentan una sensibilidad disminuida en canales de K^+ dependientes de ATP y de Ca^{2+} , cambios que podrían ser los responsables de la respuesta observada. A su vez, el incremento en la resistencia vascular umbilical observado en los fetos de tierras altas, podría deberse al efecto de catecolaminas y arginina vasopresina. Se concluyó que el feto ovino, expuesto a hipoxemia aguda sobreagregada, mantiene la capacidad de redistribuir los flujos sanguíneos hacia el cerebro, corazón y adrenales. Además, los vasos sanguíneos de los fetos de tierras altas, mostraron una menor capacidad de vasocontraerse, debido probablemente a que la hipoxia crónica, altera la respuesta de las células endoteliales y de la musculatura vascular lisa. Los resultados observados podrían ser explicados por un incremento en el tono vasodilatador, y/o por cambios en la función de los canales de K^+ dependientes de ATP y de Ca^{2+} .

ABSTRACT

High altitude chronic hypoxia, constitutes one of the main causes of fetal hypoxemia. Chronically hypoxemic sheep fetuses exposed to a superimposed episode of acute hypoxemia, maintain the cardiac output and blood flow redistribution to fetal organs. We propose the following hypothesis: The highland sheep fetuses exposed to chronic hypoxia of the Andean *altiplano* during the whole gestation, present an attenuated cardiovascular response to an acute episode of superimposed hypoxemia in comparison with sheep fetuses from lowlands. Polyvinyl catheters were placed into femoral and carotid arteries, and flowmeters were placed around the carotid and femoral arteries, in 7 high altitude fetuses (3.580 m.a.s.l.) and 8 low altitude fetuses (Santiago, 520 m.a.s.l.). At the age of 133 ± 3 days of gestation, we carried out an experimental protocol of 3 hours: 1 h basal, 1 h of hypoxemia and 1 h of recovery. Arterial gases, pH, Sat Hb and [Hb], fetal mean systemic arterial pressure, carotid and femoral blood flows and vascular resistances and heart rate were measured. Furthermore, we determined cerebral, cardiac, adrenal, renal and umbilical blood flows, vascular resistances and O₂ deliveries. During acute hypoxemia, in the group of high altitude, the mean systemic arterial pressure, carotid and femoral blood flows and renal vascular resistance were not modified. However, cerebral, cardiac and adrenal blood flows increased, vascular resistances decreased, umbilical blood flow decreased, whereas the cerebral and cardiac O₂ supply was maintained. There were no changes in the mean systemic arterial pressure in high altitude fetus, which might be due to the desensibilization of adrenergic receptors or other hormonal mechanisms. In turn, the lack of increase of carotid blood flow during acute hypoxemia was probably due to the effect of the high altitude, which reduces the contractile response in the carotid arteries. The lesser vasoconstriction in femoral arteries in the high altitude fetus, might be due to an augmented response to NO, since the femoral arteries of high altitude neonatal sheep presented an augmented response to a NO donor. The increase of cerebral, cardiac and adrenal blood flows in both groups,

could be attributed to the effect of NO, which is a main regulator of brain and heart circulations. The cerebral arteries of sheep fetuses submitted to chronic hypoxemia, present a diminished sensibility of ATP and Ca^{2+} dependent K^+ channels, changes that might be responsible for the observed response. The increased vascular umbilical resistance in high altitude fetus, may be due to the effect of catecholamines and arginine-vasopressin. We concluded that the sheep fetus exposed to an acute superimposed hypoxemia, maintains the capacity to redistribute the blood flows to brain, heart and adrenals. Moreover, they showed a reduced capacity of the blood vessels to vasoconstrict, probably due to that chronic hypoxemia alters the responses of the vascular muscle and endothelial cells. These results might be explained by an increase of the vasodilator tone, and/or to changes in the function of ATP and Ca^{2+} dependent K^+ channels.

1. INTRODUCCIÓN

Durante el transcurso de la vida intrauterina, el feto vive, crece y se desarrolla en un ambiente de baja presión parcial de oxígeno arterial, equivalente a un cuarto de la presión parcial de oxígeno arterial de su madre. A pesar de esto, el feto posee un alto consumo de oxígeno, en comparación con el adulto de su misma especie, gracias a una mayor capacidad de transporte de oxígeno por la sangre fetal y a un alto flujo sanguíneo hacia la placenta. Sin embargo, la baja presión parcial de oxígeno arterial que posee el feto, intercepta la curva de disociación de la hemoglobina por oxígeno, en la parte más pronunciada de la pendiente. Este hecho hace que pequeñas variaciones en la presión parcial de oxígeno arterial, produzcan grandes variaciones en el porcentaje de saturación de la hemoglobina por oxígeno, por lo que el feto es particularmente susceptible a sufrir episodios de hipoxia.

La hipoxia fetal corresponde a una condición patológica, que se presenta cuando los requerimientos de oxígeno son superiores a la disponibilidad de éste, alterando la funcionalidad celular de los diferentes órganos o tejidos y constituye uno de los mayores problemas de salud durante el embarazo y el parto. A grandes rasgos, las causas de hipoxia fetal pueden ser de origen a) materno; b) útero-placentario; c) fetales y d) ambientales, y según la duración de esta, puede ser de tipo aguda o crónica. Al aumentar la altura sobre el nivel del mar, la presión parcial de oxígeno ambiental y arterial disminuyen, provocando una hipoxemia crónica de origen ambiental. Debido a que amplias regiones del planeta se caracterizan por esta condición, la hipoxemia crónica de altura, es la principal causa de hipoxemia materno-fetal. Esta condición además, convierte a este escenario en un ambiente propicio para el estudio de la hipoxemia fetal y particularmente lo investigado en esta memoria, la

respuesta cardiovascular fetal frente a la hipoxemia crónica. En el presente trabajo, se estudió la condición cardiovascular basal y frente a un episodio de hipoxemia aguda sobreagregada, en el feto ovino mantenido en hipoxemia crónica de altura durante toda su gestación y se comparó con la respuesta de fetos ovinos estudiados en tierras bajas, utilizando el modelo de feto ovino crónicamente instrumentado. Este modelo experimental, se asemeja a lo que ocurre en alrededor del 4 % de las gestaciones humanas en tierras bajas, que presentan restricción del crecimiento intrauterino con hipoxemia fetal crónica, que tienen frecuentemente episodios de hipoxia sobreagregada, particularmente durante el trabajo de parto.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1) Adaptaciones a la vida intrauterina y respuesta fetal a la hipoxia

La hipoxia fetal, es una condición patológica y constituye el mayor problema de salud en la mujer durante el embarazo y el parto (Llanos, *et. al.*, 2003). Se presenta cuando los requerimientos de oxígeno (O_2) del feto son superiores a la disponibilidad de éste, lo que produce una alteración en la funcionalidad celular de los diferentes órganos o tejidos y en ciertos casos, puede afectar el normal desarrollo del feto, provocando una restricción del crecimiento intrauterino (RCIU) originando recién nacidos de bajo peso al nacimiento (Jensen y Moore, 1997). Por su parte, la hipoxemia se define como una disminución en la presión parcial de oxígeno arterial (P_aO_2) y tanto la hipoxia como la hipoxemia fetales, pueden tener un origen materno, útero-placentario, fetal o ambiental, siendo la hipoxia hipobárica de altura, una importante causa de hipoxemia materno-fetal de origen ambiental. Además, de acuerdo al tiempo de duración de el episodio, la hipoxemia puede ser de tipo aguda o crónica.

El feto en condiciones fisiológicas, vive, crece y se desarrolla en un ambiente de baja P_aO_2 , que equivale a un cuarto de la P_aO_2 materna (Llanos, *et. al.*, 2003), por esta razón, se creía antiguamente que el feto, tenía una baja velocidad de metabolismo oxidativo y una alta tasa de metabolismo anaeróbico. Con el desarrollo de la preparación del feto de oveja cateterizado crónicamente, se demostró que los fetos en condiciones fisiológicas, poseen un alto consumo de O_2 , en comparación con adultos de su misma especie (Block, *et. al.*, 1984). Este alto consumo de O_2 , en un ambiente de baja P_aO_2 , el feto lo logra gracias a una mayor capacidad de transporte de O_2 por parte de la sangre arterial fetal, ya que esta posee una mayor concentración de hemoglobina [Hb], una mayor

afinidad por el O₂ (Llanos, 1992) y a un alto flujo umbilical de alrededor del 50 % del gasto cardíaco fetal combinado (Meschia, 1978). Así, debido a la mayor afinidad de la Hb por el O₂ y a la mayor concentración de ésta, el contenido de O₂ (Cont O₂) en la arteria aorta posterior del feto cercano al término de su gestación, es sólo un 20 % mas bajo que el Cont O₂ de la sangre arterial de su madre, lo que junto con un flujo sanguíneo tisular elevado, particularmente a los “órganos nobles”, permite un aporte o disponibilidad de O₂ a estos tejidos fetales, acorde a sus altas demandas (Llanos, 1992). Sin embargo, la baja P_aO₂ de los vasos sanguíneos fetales y la pronunciada pendiente que presenta la curva de saturación de la Hb (Sat Hb) fetal, hacen al feto particularmente susceptible a sufrir episodios de menor disponibilidad de O₂ (Llanos, 1992), debido a que discretas caídas en la P_aO₂, llevan a importantes caídas en el porcentaje de Sat Hb, y por lo tanto en el Cont O₂ de la sangre arterial fetal.

Se ha observado, que la hipoxemia fetal aguda se acompaña de un aumento en la [Hb] por hemoconcentración, debido a una rápida disminución en el volumen plasmático, lo que aumenta aún más, la capacidad de transporte de O₂ por la sangre fetal (Llanos, 1992), cambio que se revierte cuando cesa la hipoxemia (Brace, 1986). También, se ha observado un aumento del hematocrito obtenido del cuero cabelludo o del cordón umbilical, en la especie humana, en presencia de hipoxemia y acidosis (Llanos, 1992). Normalmente el feto ovino tiene una disponibilidad de O₂ de aproximadamente 22 ml / min / kg, y un consumo de alrededor de 7 ml / min / kg, de modo que el feto en condiciones fisiológicas extrae aproximadamente un 30 % del O₂ que le llega a los tejidos (Llanos, 1992). Por otra parte, estimaciones de las necesidades de energía, indican que el crecimiento utiliza alrededor de un 30 % del consumo total de O₂ en el feto ovino (Hommes, *et. al.*, 1975). Además, el consumo de O₂ fetal aumenta en un 30 % en períodos de actividad respiratoria, si se lo compara con períodos de apnea (Rurak y Gruber, 1983). A su vez, fetos

hipoxémicos tienen una menor incidencia de electrocorticograma de bajo voltaje o estado REM, el que se asocia a un mayor consumo de O₂ (Boddy, *et. al.*, 1974), acompañado de una disminución de los movimientos fetales (Natale, *et. al.*, 1981) y de los movimientos respiratorios (Boddy, *et. al.*, 1974; Worthington, *et. al.*, 1981). De esta forma, el feto ovino frente a la hipoxemia aguda, reduce la actividad REM, los movimientos respiratorios y musculares esqueléticos, disminuyendo significativamente el consumo de O₂ fetal, sin que esto conlleve un metabolismo anaeróbico (Llanos, 1992). De esta forma, el feto ovino es capaz de mantener el metabolismo aeróbico, frente a reducciones de hasta un 40 – 50 % en el aporte de O₂, incluso en presencia de hipoxemia (Edelstone, 1984). Mas aún, en la hipoxemia crónica se reduce la velocidad de crecimiento fetal, que lleva a la RCIU y a un recién nacido pequeño para su edad gestacional.

2.2) Respuesta cardiovascular fetal a la hipoxemia aguda

La respuesta cardiovascular fetal a la hipoxemia aguda constituye una respuesta de vital importancia, debido a que permite optimizar la utilización del O₂, que se torna cada vez más escaso a medida que se prolonga el deterioro en la oxigenación, manteniendo el aporte de este hacia los centros vitales. Estudios en fetos ovinos de último tercio de gestación, mostraron que la respuesta cardiovascular involucra una bradicardia inicial transitoria, hipertensión sistémica y pulmonar, mantención del gasto cardíaco ventricular combinado fetal y flujo sanguíneo umbilical, y una redistribución de los flujos sanguíneos que favorece el cerebro, corazón y glándulas adrenales, en desmedro del flujo sanguíneo hacia el resto de los órganos fetales (Cohn, *et. al.*, 1974). Esta redistribución de los flujos sanguíneos fetales, obedece a cambios en la resistencia vascular de los diferentes órganos fetales y los

mecanismos responsables de esta regulación involucran componentes nerviosos, endocrinos y locales (Llanos, *et. al.*, 2003).

La bradicardia y la vasoconstricción periférica que se observan al comienzo de la hipoxemia aguda, son inducidos por la caída en la P_aO_2 , que es detectada por los quimiorreceptores carotídeos, que llevan la información hacia el sistema nervioso central (Giussani, *et. al.*, 1993). El rápido descenso inicial en la frecuencia cardíaca (FC), es mediado por un quimioreflejo y barorreflejo, cuya vía aferente es el nervio glosofaríngeo y la vía eferente es el nervio vago. La sección bilateral de éste o el bloqueo muscarínico con atropina producen la abolición de la bradicardia fetal (Giussani, *et. al.*, 1993). Por su parte, la vasoconstricción y la hipertensión arterial sistémica y pulmonar (Cohn, *et. al.*, 1974), son producidas por un incremento en la resistencia vascular periférica, debida principalmente a una vasoconstricción arteriolar de la carcaza (músculo, piel y hueso, que recibe el 35 % del gasto cardíaco combinado), intestinos, bazo, hígado, pulmones y riñones fetales (Cohn, *et al.*, 1974). Esta vasoconstricción es inducida por estimulación simpática y por potentes sustancias vasoconstrictoras, que aumentan significativamente su concentración plasmática durante la hipoxemia. Se ha descrito un aumento en la concentración plasmática de catecolaminas (Giussani, *et. al.*, 1994), arginina vasopresina (AVP) (Pérez, *et al.*, 1989), angiotensina II (AII) (Hanson, 1997), ACTH y cortisol (Gardner, *et. al.* 2001), neuropeptido Y (NPY) (Sanhueza, *et. al.*, 2003), tromboxano (Sellers y Stallone, 2008) y endotelinas (ETs) (Yanagisawa, *et. al.*, 1988). Por otra parte, el aumento del flujo sanguíneo en cerebro, corazón y glándulas suprarrenales, durante hipoxemia aguda, es debido al efecto de agentes vasodilatadores (Llanos, *et. al.*, 2003) como el óxido nítrico (NO) (Coumans, *et. al.*, 2003), el monóxido de carbono (CO) (Nachar, *et. al.*, 2001; Herrera, *et. al.*, 2008) y prostaciclina (PGI_2) (He, *et. al.*, 1999).

2.3) Regulación de la respuesta cardiovascular fetal a la hipoxemia aguda

2.3.1) Sistema nervioso simpático

Se ha determinado la importancia del sistema nervioso simpático, en la respuesta cardiovascular fetal, mediante la administración de fentolamina, un bloqueador de receptores α_1 y α_2 adrenérgicos, en fetos ovinos entre los 122 y 129 días de gestación. En fetos sometidos a hipoxemia aguda ($\text{PaO}_2 \approx 13$ mmHg) y a bloqueo con fentolamina, se abolió el aumento en la resistencia vascular femoral (Giussani, *et. al.*, 1993), mientras que, en fetos con el seno carotídeo denervado quirúrgicamente y sometidos a hipoxemia aguda ($\text{PaO}_2 \approx 13$ mmHg), se abolió el quimiorreflejo que aumenta rápidamente la resistencia vascular femoral y se observó un aumento tardío de ésta, que se atribuyó a liberación de catecolaminas desde las glándulas adrenales, mediante un efecto directo de la hipoxemia sobre estas (Giussani, *et. al.*, 1993, López-Barneo, *et. al.*, 2006). Estos resultados demuestran que el aumento en la resistencia vascular femoral, es una respuesta refleja detectada por los quimiorreceptores carotídeos y mediada por el sistema α -adrenérgico, por acción de catecolaminas. Por otra parte, todos los fetos ovinos con denervación carotídea y bloqueo con fentolamina, sometidos a hipoxia aguda, murieron debido a un colapso cardiovascular (Giussani, *et. al.*, 1993) y, 9 de 14 fetos con bloqueo de fentolamina con el seno carotídeo intacto, sobrevivieron a la hipoxemia aguda, lo que sugirió la existencia de componentes vasoconstrictores, mediados por los quimiorreceptores carotídeos, cuya vía de acción es independiente del sistema α -adrenérgico (Giussani, *et. al.*, 1993). A su vez, la denervación carotídea no afectó la resistencia vascular carotídea (Giussani, *et. al.*, 1993), por lo que la regulación del flujo sanguíneo carotídeo durante hipoxemia aguda, no estaría mediado por esta respuesta quimiorrefleja (Giussani, *et. al.*, 1993).

2.3.2) Sistema endocrino

Arginina vasopresina

Se determinó el efecto de AVP, mediante el uso del antagonista V_1 del receptor de AVP, en hipoxemia aguda, en fetos ovinos entre los 122 y 146 días de gestación, donde la administración del antagonista, revertió parcialmente la hipertensión y la bradicardia (Pérez, *et. al.*, 1989), aumentó el flujo sanguíneo umbilical ($23 \pm 4 \%$) e intestinal ($51 \pm 19 \%$) y disminuyó el flujo sanguíneo cardíaco y cerebral ($22 \pm 11 \%$ y $29 \pm 12 \%$ respectivamente) (Pérez, *et. al.*, 1989). Esto indica que AVP juega un rol importante en la respuesta cardiovascular, en fetos ovinos de 0,79 - 0,90 de gestación, produciendo vasoconstricción intestinal y umbilical, y vasodilatación cerebral y cardíaca durante hipoxemia aguda (Pérez, *et. al.*, 1989).

Angiotensina II

Se estudió el efecto de All en la circulación fetal, mediante infusión de saralasin, un agonista competitivo de All en el feto ovino, donde se observó una caída de la presión arterial media (PAM) y del flujo sanguíneo umbilical, un aumento del flujo sanguíneo a la tiroides, adrenales y carcaza, y mantención de la resistencia vascular umbilical y gasto cardíaco fetal (Iwamoto y Rudolph, 1979). Además, la infusión intravenosa de All a niveles similares a los observados durante una hemorragia, en fetos de oveja, provocó un aumento en la PAM, FC y en el gasto cardíaco ventricular combinado fetal, disminuyó el flujo sanguíneo umbilical, gastrointestinal y tiroideo, mientras que aumentó el flujo sanguíneo hacia el miocardio y hacia la circulación pulmonar (Iwamoto y Rudolph, 1981).

Por otra parte, se ha observado que el incremento en las concentraciones plasmáticas tanto de AVP, como de All durante la hipoxemia fetal no es afectado por la denervación del seno carotídeo en fetos ovinos (Hanson, 1997), lo que sugiere la existencia de mecanismos vasoconstrictores independientes de los quimiorreceptores carotídeos, que se activan durante hipoxemia aguda y que estarían enmascarados por la activación del sistema adrenérgico

Cortisol y ACTH

La elevación de las concentraciones plasmáticas de cortisol de $2,0 \pm 0,6$ a $8,3 \pm 0,9$ ng / ml (Wood, *et. al.*, 1987), mediante la infusión en concentraciones fisiológicas durante 5 horas, en fetos ovinos entre los 127 y 143 días de gestación, provocó un incremento de la PAM, una caída de la FC, del volumen sanguíneo y una disminución de un 70 % en las concentraciones plasmáticas de epinefrina y norepinefrina, y de un 34 % en la concentración de renina plasmática (Wood, *et. al.*, 1987). Esto demuestra que el cortisol tiene importantes efectos en el sistema cardiovascular fetal (Wood, *et. al.*, 1987).

Se determinó la respuesta del sistema hipófisis-adrenal, en fetos ovinos sometidos a una reducción del flujo sanguíneo umbilical de un 30 % durante 3 días, a los $124 \pm 0,5$ días de gestación (Gardner, *et. al.*, 2001), los que luego fueron sometidos a hipoxemia aguda a los 2 y 5 días posteriores a la oclusión parcial del cordón y se compararon con un grupo control (Gardner, *et. al.*, 2001). La compresión parcial de cordón umbilical provocó un incremento transitorio de la ACTH plasmática y un incremento progresivo del cortisol plasmático (Gardner, *et. al.*, 2001). Cinco días post compresión umbilical, la concentración de ACTH basal, fue mayor en el grupo sometido a compresión, sin embargo, la respuesta de cortisol a ACTH fue similar en ambos grupos (Gardner, *et. al.*, 2001). Se observó además, un incremento del peso

adrenocortical en los fetos expuestos a compresión parcial (Gardner, *et. al.*, 2001). Los resultados sugieren que la hipoxemia provoca un cambio de funcionamiento de este eje a nivel basal, el que podría incluir un aumento en la capacidad de síntesis esteroidogénica en las glándulas suprarrenales, que no se debió a cambios en la sensibilidad de estas a ACTH (Gardner, *et. al.*, 2001). Por otra parte, se sabe que exposiciones inapropiadas a glucocorticoides, después de períodos de condiciones intrauterinas adversas, tiene importantes implicancias para el desarrollo fetal y postnatal (Gardner, *et. al.*, 2001).

Neuropéptido Y (NPY)

Se determinó el rol del NPY, potente vasoconstrictor, en la respuesta cardiovascular del feto ovinos (0,8 - 0,9 de gestación), durante hipoxemia aguda, mediante el tratamiento intravenoso (i. v.) con un antagonista selectivo del receptor de NPY (1) (Sanhueza, *et. al.*, 2003). Se observó que el NPY regula la respuesta cardiovascular a la asfixia y que el tratamiento con el antagonista del receptor no afectó la respuesta cardiovascular frente a hipoxemia aguda moderada (Sanhueza, *et. al.*, 2003), lo que sugiere un mayor rol del NPY en la respuesta cardiovascular fetal a la asfixia, que a la hipoxemia aguda moderada (Sanhueza, *et. al.*, 2003).

2.3.3) Rol del endotelio en la respuesta cardiovascular fetal a la hipoxemia

Hoy se sabe que el endotelio vascular, es muy importante en la respuesta cardiovascular frente a la hipoxemia, ya que este sensa o mide la baja PO_2 y libera sustancias de acción local, que van a ejercer su efecto directamente en la célula del músculo liso vascular, produciendo vasodilatación como el NO, CO, PGI_2 , o vasoconstricción como la ET-1 y tromboxanos.

El NO, es un radical libre sintetizado a partir de L-arginina y O₂, por la enzima óxido nítrico sintasa (NOS) (Carvajal, *et al.*, 2000) y el CO, una molécula de gas endógeno, que se produce en pequeñas cantidades en los vasos sanguíneos por acción de las hem oxigenasas (Nachar, *et. al.*, 2001). Existen hasta ahora tres tipos de hemoxigenasas HO-1, HO-2 y HO-3, provenientes de 3 genes distintos (Ryter, *et. al.*, 2006). Ambos gases difunden a la célula muscular lisa, donde activan la enzima guanilil ciclasa soluble (sGC), la que aumenta el cGMP, que induce una cascada de fosforilaciones que reducen el Ca²⁺ citosólico, produciendo la relajación de la musculatura vascular lisa (Carvajal, *et. al.*, 2000).

Se determinó el rol del NO, mediante el uso de L-NAME, un inhibidor de la NOS, durante normoxemia e hipoxemia inducida por oclusión de la arteria aorta materna, durante 2 min, en el feto ovino de 0,75 de gestación y se comparó con un grupo control sin bloqueador. L-NAME durante normoxemia produjo bradicardia y aumentó la PAM, redujo el gasto cardíaco en un 64 % y el flujo sanguíneo de la carcasa, placenta y cerebro en un 62 %, 66 % y 55 % respectivamente (Coumans, *et. al.*, 2003). Durante hipoxemia aguda, los fetos con L-NAME mostraron un menor incremento, en el flujo sanguíneo hacia el cerebro y corazón (Coumans, *et. al.*, 2003). Estos resultados demuestran que NO, participa como un eje central en la regulación cardiovascular durante normoxia e hipoxemia aguda y media el aumento del flujo sanguíneo hacia cerebro y corazón (Coumans, *et. al.*, 2003).

La ET-1 es un péptido producido principalmente por la célula endotelial, el cual es un potente vasoconstrictor de acción prolongada (Yanagisawa, *et. al.*, 1988), cuya síntesis es modulada por diversos estímulos como noradrenalina, hipoxia, isquemia y estrés mecánico (Yanagisawa, *et. al.*, 1988). La ET-1 se une

a dos tipos de receptores llamados ET-A y ET-B. Los receptores ET-A se encuentran en la musculatura lisa vascular y en los cardiomiocitos, mientras que, los ET-B se localizan en el endotelio y en la musculatura lisa vascular (Galié, *et. al.*, 2004). La unión de ET-1 a los receptores ET-A y a los ET-B de la musculatura vascular, activan la fosfolipasa C, la que aumenta el inositol trifosfato (IP3) y el diacil glicerol (DAG), los que aumentan la concentración de Ca^{2+} intracelular, produciendo vasoconstricción, mientras que, la unión con el receptor ET-B endotelial, estimula la liberación de NO y prostaciclina, previene la apoptosis y promueve la eliminación de ET-1 circulante (Galié, *et. al.*, 2004).

Se estudió la respuesta cardiovascular del feto ovino a los 118 - 121 días de gestación, frente al antagonista FR 139317 de receptores ET-A (Green, *et. al.*, 1998). En normoxemia, FR 139317 aumentó la frecuencia cardíaca, el flujo sanguíneo carotídeo y disminuyó la resistencia vascular carotídea (Green, *et. al.*, 1998). Durante hipoxemia, con el antagonista no aumentó el flujo sanguíneo carotídeo (Green, *et. al.*, 1998). Esto indica que ET-1 modula la frecuencia cardíaca, el flujo sanguíneo cerebral y la resistencia vascular carotídea en normoxia, y modula el flujo sanguíneo y la resistencia vascular carotídea en hipoxemia, en el feto ovino de gestación tardía (Green, *et. al.*, 1998).

2.4) Hipoxemia crónica

A nivel del mar, la presión barométrica es de ~ 760 mmHg. Dado que el oxígeno corresponde a aproximadamente el 21 % del gas atmosférico, la PO_2 atmosférica es de 160 mmHg. A su vez, la PO_2 en el alvéolo es de 100 mmHg, la P_aO_2 es de aproximadamente 95 mmHg y el rango de saturación de la Hb se encuentra entre 95 y 100 %. Sin embargo, a medida que aumenta la altura sobre el nivel del mar, la presión barométrica desciende, por lo que la

PO₂ ambiental y alveolar disminuyen, cayendo también la diferencia de PO₂ entre el alvéolo y los capilares pulmonares, lo que provoca una disminución en la difusión de este gas a través de la membrana alveolar. De esta forma, a 4.000 metros de altura sobre el nivel del mar (m.s.n.m.) la P_aO₂ cae a cerca de 50 mmHg y la saturación de hemoglobina por oxígeno cae a alrededor de 80 %. (Krampl, *et. al.*, 2000). Por lo tanto, los humanos y animales, que viven en la altura por largo tiempo, se encuentran sometidos crónicamente, a un ambiente de hipoxemia o hipoxia hipobárica.

La hipoxemia crónica cobra real importancia, ya que, en el mundo actualmente 140 millones de personas viven sobre los 2.500 m.s.n.m. y otros 40 millones viajan anualmente a estas regiones (Moore, 2003). En poblaciones humanas que viven en altura, se ha demostrado, que el peso al nacimiento cae a medida que aumenta la altitud. Construyendo curvas de peso de nacimiento vs. altitud, se demuestra que éste cae 100 g por cada 1.000 m de aumento de altitud (Jensen y Moore, 1997; Mortola, 2000). La disminución en el peso al nacimiento ocurre en recién nacidos de término y no es provocada por una confusión con un recién nacido pretérmino, aunque en la altitud también se describe un aumento en la frecuencia de recién nacidos prematuros, los que presentan aún mayor tasa de restricción del crecimiento intrauterino para su edad gestacional. (Moore, *et. al.*, 1982; Unger, *et. al.*, 1988). Este efecto en la restricción de crecimiento intrauterino, es causado únicamente por la acción que ejerce la hipoxemia originada por la altura y es independiente de otros factores o afecciones que alteran el crecimiento fetal, como tabaquismo, hipertensión materna, desnutrición materna o variables de tipo socioeconómica (Jensen y Moore, 1997; Giussani, *et. al.*, 2001). Por otra parte, la caída en el peso corporal al nacimiento, es menor en los residentes más antiguos en la altitud, como los tibetanos y amerindios, y es mayor en los pueblos con menor tiempo en la altitud como los chinos y europeos. Estos resultados sugieren la existencia

de algún grado de adaptación por parte de los residentes más antiguos de la altura (Moore, *et. al.* 2001a).

El análisis morfométrico indica que la RCIU es asimétrica, puesto que, el cerebro y el corazón presentan una menor reducción porcentual en el peso, en relación con el resto de los órganos fetales (Jacobs, *et. al.*, 1988; Krampl, *et. al.*, 2000; Block, *et. al.*, 1984). Por su parte, en la especie ovina, se ha observado que los fetos gestados y nacidos en tierras altas (3.620 m.s.n.m.), hijos de rebaños mantenidos en la altura durante varias generaciones, presentan una disminución del peso al nacimiento de entre un 26 a 29 % y una disminución del diámetro biparietal y abdominal, en comparación con fetos de tierras bajas (Parraguez, *et. al.*, 2005).

2.5) Respuesta fetal en modelos experimentales de hipoxemia crónica

El efecto adverso de la hipoxemia crónica en la vida fetal es de gran importancia clínica, debido a la gran cantidad de población humana y animal que habita la altura, ya que esta puede tener consecuencias tanto en la vida fetal, neonatal como adulta. Mas aún, hoy en día existen estudios que evidencian que hay una relación entre el bajo peso al nacimiento por RCIU (déficit de nutrientes y aporte de O₂), con la aparición de enfermedades cardiovasculares y metabólicas en la etapa adulta en humanos y animales, lo que se conoce como Origen Fetal de las Enfermedades del Adulto, o hipótesis de Barker (Barker, 2007). Sin embargo, a diferencia de la respuesta cardiovascular fetal durante hipoxemia aguda, la respuesta cardiovascular fetal frente a la hipoxemia crónica es menos conocida. Se han usado diferentes preparaciones experimentales para inducir hipoxemia fetal crónica y estudiar el efecto basal de la hipoxemia fetal crónica y de la hipoxemia aguda

sobreagregada (Llanos *et. al.*, 1980; Robinson *et. al.*, 1983; Block *et. al.*, 1984, 1989; Kamitomo *et. al.*, 1989; Rockwell, *et. al.*, 2000; Pereyra, *et. al.*, 2007).

Llanos *et. al.* (1980), encontraron un mayor aumento en la FC al bloquear el sistema parasimpático con atropina y una importante disminución de la FC al bloquear el sistema beta-adrenérgico con propanolol, en fetos ovinos con RCIU, inducido por embolización del lecho vascular útero-placentario, sugiriendo una maduración precoz, tanto del sistema simpático como parasimpático en fetos con RCIU. En esta misma preparación experimental (Block *et. al.*, 1984), se observó basalmente una condición de hipoxemia crónica, con perfusión umbilical disminuida y con un aumento del flujo sanguíneo a cerebro, corazón y adrenales. Ante una hipoxemia aguda sobreagregada, estos fetos crónicamente hipóxicos aumentan discretamente la perfusión hacia los “órganos nobles” (Block *et. al.*, 1984), sugiriendo que estos fetos tienen un margen de compensación ante una hipoxia aguda más restringido que los controles. En un modelo de RCIU e hipoxemia crónica, mediante remoción parcial de tejido uterino previo a la preñez (Robinson *et. al.*, 1983), en el feto ovino a los 135 - 140 días de gestación, se observó una bradicardia mas prolongada, una mayor tendencia a desarrollar hipoxemia y acidemia, y un aumento mayor en las concentraciones plasmáticas de cortisol y ACTH, durante un episodio de hipoxemia aguda sobreimpuesta. Estos resultados sugieren una alteración tanto a nivel fisiológico como endocrino en los fetos con RCIU (Robinson *et. al.*, 1983).

En un modelo de feto ovino expuesto a hipoxia hipobárica crónica de altura (3.820 m.s.n.m.), desde los 30 hasta los 120 días de gestación. En estos fetos, determinaron el gasto cardíaco combinado y su distribución. Durante el período basal el gasto cardíaco en los fetos hipoxémicos crónicos fue significativamente menor que los controles de tierras bajas (351 ± 55 vs. $483 \pm 11,6$ ml / min / kg),

los flujos sanguíneos hacia cerebro y corazón se mantuvieron en los mismos niveles que los de tierras bajas y el flujo a la carcasa fue significativamente más bajo que en los fetos de tierras bajas (49 % menor). Durante el período de hipoxemia aguda sobreagregado, el gasto cardíaco se mantuvo en los animales con hipoxemia crónica y el flujo hacia el cerebro, corazón y glándulas suprarrenales aumentó en 112 %, 135 % y 156 % respectivamente, en comparación con su período basal. Esto demuestra que durante la hipoxemia crónica de altura, el gasto cardíaco ventricular combinado fetal también tiene la capacidad de redistribuirse, favoreciendo el flujo sanguíneo hacia los órganos nobles, en desmedro de otras áreas corporales (Kamitomo *et. al.*, 1992). En este modelo experimental se trasladó las madres preñadas desde el 20 al 82 % de la gestación a 3.820m de altitud. Una vez cumplido el 82% de gestación en la hipoxia hipobárica de las grandes altitudes, se llevaron a una hipoxia normobárica a nivel de mar, con un período variable de normoxia normobárica. Así, se trasladaron los animales durante 7 horas, desde la altitud a tierras bajas, respirando las madres el aire ambiental durante el transporte, de la hipoxia hipobárica a la normoxia normobárica. Veinticuatro horas después de llegar a nivel de mar, la madre y los fetos fueron instrumentados y luego de 24 h después de la cirugía (48h después de la llegada a tierras bajas), redujeron la FiO_2 materna con N_2 al nivel de PO_2 que las madres tenían en la altura, mediante un catéter traqueal (hipoxia normobárica). Las mediciones basales y ante una hipoxia aguda sobreimpuesta se realizaron a tiempos variables después de la cirugía. Se comentan en detalle estos procedimientos ya que las mediciones maternas y fetales, tanto basales como en hipoxia aguda, se hicieron a nivel de mar, con un período de normoxia de al menos 48 h desde el transporte de las grandes altitudes a nivel de mar. Estas diferentes condiciones pueden haber afectado los resultados.

Por otra parte, la hipoxemia crónica de altura, afecta el normal desarrollo de la circulación útero-placentaria en cobayas preñadas, las que presentaron un aumento en la síntesis de DNA significativamente menor en arterias uterinas de el grupo de tierras altas (3.962 m.s.n.m.) comparado con el de tierras bajas (Rockwell, *et. al.*, 2000). Además, en las arterias mesometriales, la síntesis de DNA aumentó en ambos grupos, sin embargo, en TA este valor retornó a niveles de madres no preñadas al 62 % de su gestación, mientras que, en el grupo de TB, la síntesis de DNA se mantuvo aumentada hasta cerca del término (Rockwell, *et. al.*, 2000). Los pesos fetales fueron menores y la relación de peso placenta / feto fue mayor en los fetos de TA cercanos al término. Se concluyó, que la disminución en el crecimiento de la vasculatura útero-placentaria durante la preñez, podría contribuir a la disminución en el flujo sanguíneo hacia el útero resultando en RCIU en la altitud (Rockwell, *et. al.*, 2000). Estudios Doppler en humanos, han determinado, que el aumento en la velocidad del flujo sanguíneo en la arteria uterina durante la preñez, se correlaciona directamente con el peso al nacimiento en tierras bajas, lo que no ocurre en tierras altas, debido al menor diámetro que presentan estas arterias en tierras altas (Moore, 2003).

En un modelo experimental similar al utilizado por Kamitomo *et. al.* (1992 y 1993), se estudió la relación entre el flujo sanguíneo cerebral, medido por Doppler, con la P_aO_2 cortical y del seno sagital, en fetos ovinos expuestos a un modelo de hipoxemia aguda sobreagregada a hipoxemia crónica (Pereyra, *et. al.*, 2007). Se observó, en el grupo expuesto a hipoxemia crónica un aumento del flujo sanguíneo carotídeo de un 10 ± 2 % en los primeros 20 min de hipoxemia sobreagregada y de un 19 ± 2 % en los 20 min restantes de esta. En cambio, el grupo control aumentó en un 31 ± 2 % en los primeros 20 min de hipoxemia y en un 44 ± 2 % en los 20 min restantes (Pereyra, *et. al.*, 2007). Sin embargo, en contraste con los flujos sanguíneos, en ambos grupos la

oxigenación cerebral fue similar, ya que la P_aO_2 en ambos grupos cayó a 2 ± 1 mmHg, durante la hipoxemia aguda (Pereyra, *et. al.*, 2007). Se concluyó que el feto ovino de tierras altas, no presenta compromiso de la oxigenación cerebral, incluso durante un episodio de hipoxemia sobreagregada (Pereyra, *et. al.*, 2007).

Otro estudio, sometió a fetos ovinos de entre 110 a 115 días de gestación, a hipoxemia durante 28 días, mediante una cámara hipobárica. A las 24 h de iniciada la hipoxemia, se observó un aumento significativo de la eritropoyetina plasmática de 6 veces su valor basal ($22,8 \pm 2,2$ a 144 ± 37 mU / mL), la que volvió a su nivel basal al día 7 de hipoxemia. Se observó un aumento progresivo de la hemoglobina de $10,0 \pm 1,0$ a $12,9 \pm 1,9$ g / dL, a los 7 días de hipoxemia, que se mantuvo elevada hasta el final del experimento y un aumento de la masa de glóbulos rojos (Kitanaka *et. al.*, 1989). Estos cambios indican que la hipoxia crónica aumenta la capacidad de transporte de O_2 por la sangre fetal, capacidad que se mantiene durante una hipoxemia sostenida en el tiempo (Kitanaka *et. al.*, 1989).

3. HIPÓTESIS

Los fetos ovinos nativos de tierras altas, expuestos a hipoxemia crónica de altura durante toda su gestación, instrumentados y estudiados en tierras altas presentan una respuesta cardiovascular atenuada, frente a un episodio de hipoxemia aguda sobreagregada, en comparación con fetos ovinos de tierras bajas.

4. OBJETIVO GENERAL

Determinar la condición cardiovascular basal y la respuesta cardiovascular a un período de hipoxemia aguda sobreagregada, que presentan los fetos ovinos crónicamente hipóxicos por exposición a las grandes altitudes y comparar estos resultados con fetos ovinos normóxicos de tierras bajas.

5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar tanto en el grupo de tierras altas como en el de tierras bajas, durante el período basal, de hipoxemia y de recuperación:

1. pH, presión parcial de O₂ y de CO₂, porcentaje de saturación de la hemoglobina por O₂ (% Sat Hb) y concentración de hemoglobina [Hb] en la sangre arterial, en los fetos y sus madres.
2. Presión sistémica arterial media y frecuencia cardíaca, en los fetos y sus madres.

3. Flujo sanguíneo y resistencia vascular carotídea y femoral fetales.
4. Presión de líquido amniótico.
5. Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno a los siguientes órganos fetales: cerebro, corazón, glándulas suprarrenales y riñones.
6. Flujo sanguíneo y resistencia vascular umbilical, y aporte de oxígeno a la placenta por la circulación umbilical fetal.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en la Estación Experimental Putre, del Centro Internacional de Estudios Andinos (INCAS), Universidad de Chile y en el Laboratorio de Fisiología y Fisiopatología del Desarrollo (FFDD), Programa de Fisiopatología, Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Todos los procedimientos quirúrgicos y experimentales fueron aprobados por el Comité de Bioética sobre la investigación en los animales, de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile (Protocolo CBA # 097, FM UCH).

6.1) Animales

Se estudiaron 15 fetos ovinos a los 133 ± 3 días de gestación, divididos en dos grupos; 8 fetos provenientes de ovejas de tierras bajas (TB), como grupo control nacidas y preñadas en tierras bajas (Santiago, 520 metros de altitud) de raza Merino y 7 fetos provenientes de ovejas nacidas y preñadas en tierras altas (TA, Putre, 3.580 metros de altitud) de madres criollas tipo Merino.

6.2) Preparación Quirúrgica

Todos los procedimientos, cirugías y estudios experimentales, tanto maternos como fetales se realizaron bajo estrictas condiciones de esterilidad.

6.2.1) Cateterización materna

Previo ayuno de 12 h y bajo premedicación con atropina (Atropina Sulfato 0,04 mg / kg i. m., Laboratorio Chile, Chile) y anestesia general superficial

(Ketamina 10 - 20 mg / kg i. m., Ketostop, Drug Pharma-Invetec, Chile) e infiltración local adicional de lidocaina 2 % (Dimecaina, Laboratorio Beta, Chile), se instalaron catéteres de polivinilo en la arteria aorta abdominal y en la vena cava posterior vía arteria y vena tibiales respectivamente. Los catéteres se mantuvieron permeables con una solución salina de heparina (Heparina Sódica, Laboratorio Bestpharma S.A., Chile) 1000 UI heparina / ml, luego fueron sellados con alambre de cobre y exteriorizados, mediante el traspaso de un trocar por el subcutáneo, desde el lugar de la incisión hasta el flanco del animal, donde se acomodaron en un bolsillo de género suturado a la piel.

6.2.2) Cateterización fetal

Después de 48 h de la cateterización materna, se realizó la instrumentación fetal, previo ayuno de 24 h y bajo premedicación materna con 0,04 mg / kg de atropina i. m. (Atropina sulfato, Laboratorio Chile, Chile) e inducción con 10 - 15 mg / kg de tiopental (Tiopental Sódico, Laboratorio Biosano SA, Chile) para intubar y luego dar paso a la anestesia inhalatoria con 0,5 - 2 % halotano (Laboratorio Bestpharma S.A., Chile) en una mezcla al 50 : 50 % de O₂ con N₂O.

Mediante una laparotomía mediana se accedió al cuerno uterino gestante y se realizó una primera histerotomía, en la que se expusieron los miembros posteriores del feto. Se realizó una incisión en un miembro posterior del feto, donde se introdujeron catéteres de polivinilo por la arteria y vena tibiales, hasta quedar alojados en la arteria aorta y vena cava abdominales fetales. Luego que los catéteres fueron llenados con heparina 1000 U / ml, sellados y fijados al subcutáneo, se suturó la incisión. En el miembro contralateral posterior, se realizó una incisión por la cara interna del miembro, a la altura del tercio proximal del fémur, donde se instaló un medidor transónico de flujo sanguíneo

continuo (Transonics, Systems, Ithaca, NY), alrededor de la arteria femoral interna. Se suturaron las fascias musculares, la piel del feto y se procedió a realizar la primera histerorrafia. Una segunda histerotomía se llevó a cabo, para exponer la cabeza y cuello del feto, donde se realizó una incisión en la línea media ventral del cuello, para introducir catéteres de polivinilo en la arteria carótida y vena yugular. En la arteria carótida contralateral, se instaló un segundo medidor transónico de flujo sanguíneo continuo. Finalmente se fijó un catéter de polivinilo en cavidad amniótica, con el fin de descontar la presión de líquido amniótico en el cálculo de la presión arterial fetal. Luego, todos los catéteres fueron llenados con heparina 1000 U / ml, sellados y exteriorizados a través del flanco materno. Luego se procedió a realizar la segunda histerorrafia y a suturar la incisión abdominal. Para compensar la pérdida de líquido durante la cirugía se suministró a las madres solución NaCl 0,9 % (15 - 20 ml / kg / hora e. v.).

Después de la cirugía los animales se mantuvieron en corrales durante 4 días previos a los experimentos, con comida y agua *ad libitum*, para una adecuada recuperación y normalización de los gases arteriales sanguíneos fetales. Diariamente los catéteres vasculares maternos y fetales fueron revisados y mantenidos con suero heparinizado (1000 UI / ml) y cada 24 h se administró 500 mg de ampicilina (Laboratorio Bestpharma S.A., Chile), 80 mg de gentamicina (Gentamicina Sulfato, Laboratorio Biosano SA, Santiago, Chile) en el líquido amniótico, y a las madres 1 gr. cefazolina e. v. (Laboratorio Bestpharma S.A., Chile) y analgésicos cada 12 h (2 - 4 gr. de dipirona e. v.) (Metamizol sódico, Laboratorio Bestpharma S.A., Chile).

6.3) Protocolo experimental

Los experimentos se basaron en un protocolo de 3 horas de duración dividido en tres períodos: 1 hora basal, 1 hora de hipoxemia y 1 hora de recuperación. En la hora basal y en la recuperación las madres respiraron aire ambiental. La hipoxemia fetal (P_aO_2 : $11,7 \pm 0,3$ y $14,6 \pm 0,6$ mmHg en arteria carótida en TA y TB respectivamente), fue inducida por reducción en la fracción inspirada de O_2 ($F_i O_2$) de las madres. Para este fin se instaló una bolsa de polietileno transparente en la cabeza de las madres, conectada a un sistema que proporcionó una mezcla controlada de aire, N_2 , y CO_2 , de alrededor de 50 litros por minuto, logrando así una hipoxia isocápnic, ya que la presión parcial de CO_2 arterial materna (P_aCO_2) se mantuvo durante todo la hipoxemia, ajustando la cantidad de CO_2 agregado.

6.4) Mediciones

6.4.1) pH y gases en sangre

Se tomaron muestras de sangre arterial maternas y fetales (0,3 ml) en jeringas heparinizadas a los 15, 45 y 60 minutos del período basal; cada 15 minutos durante la hora de hipoxia, y a los 15 y 45 minutos de recuperación. El pH, PaO_2 , $PaCO_2$ (corregidas a $39^\circ C$ para los fetos y $38^\circ C$ para las madres) fueron medidos en un equipo analizador de pH y gases sanguíneos (ABL 555, Radiometer, Copenhagen, Denmark), y el porcentaje de saturación de Hb y concentración de Hb en un hemoxímetro (OSM 2 / 3, Radiometer, Copenhagen, Denmark).

6.4.2) Variables cardiovasculares

Las presiones arterial y venosa fetales, la presión arterial materna y presión líquido amniótico fueron registradas en forma continua, durante todo el experimento, mediante conexión de los catéteres a transductores de presión (ADInstruments, MLT 0380 / A, BP Transducer, Arquimed), conectados a un sistema de adquisición de datos (Power Lab / 8 sp, ADInstrument, Arquimed) y a un programa computacional de registro de variables fisiológicas (Chart 5,0, ADInstruments, Arquimed). La presión arterial media y la frecuencia cardíaca materna y fetal fueron calculadas por el programa computacional.

Flujos sanguíneos carotídeo y femoral fetales

Los flujos sanguíneos carotídeo y femoral fetal fueron medidos continuamente con medidores de flujo sanguíneo continuo (Transonics, Systems, Ithaca, NY) y registrados en un sistema de adquisición de datos (Power Lab / 8sp, ADInstrument, Arquimed).

6.4.3) Determinación del flujo sanguíneo de órganos fetales

Los flujos sanguíneos cerebral, cardíaco, adrenal, renal y umbilical fetales, se determinaron mediante inyecciones de microsferas fluorescentes (Prinzen y Bassingthwaighe, 2000), en los minutos 45 del período basal, de hipoxemia y de recuperación. Se inyectaron 1.000.000 de microsferas fluorescentes de diferente color para cada período experimental por vía vena cava posterior fetal, las que fueron suspendidas mediante ultrasonido en 2 mL de solución salina. Estas al entrar en la circulación sanguínea del feto por la vena cava posterior, llegan al corazón fetal y se distribuyen en forma proporcional al flujo sanguíneo fetal, las que luego quedan retenidas rápidamente en las redes

capilares de los órganos fetales, debido a su diámetro de 15 μm (Heymann *et al.*, 1977; Prinzen y Bassingthwaigthe, 2000). Al momento de cada inyección de microesferas, se extrajeron muestras de sangre de la arteria carótida y aorta abdominal, con una velocidad de extracción constante de 3,24 mL / min, durante 90 segundos, que corresponden a los flujos de referencia de los hemicuerpos superior (carótida) e inferior (aorta abdominal).

Eutanasia y digestión de los órganos fetales

Habiendo completado el protocolo experimental, se procedió a eutanasiar a las ovejas y fetos con una sobredosis de tiopental e. v. (100 mg / kg Tiopental Sódico, Laboratorio Biosano SA, Santiago, Chile), seguido de una solución saturada de cloruro de potasio e. v. Luego de pesar los fetos, se procedió a disecar, pesar y colocar en frascos los órganos fetales, los que fueron digeridos con una solución de KOH 3M, etanol 80 %, Tween 80 0,5 % a 40°C durante aproximadamente 30 días.

Determinación de la fluorescencia, cálculo del flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de O₂ de los órganos fetales

Posteriormente, las microesferas retenidas en los órganos, se recuperaron mediante filtración al vacío con un filtro de 10 μm de diámetro de poro. Luego las microesferas retenidas en los filtros fueron tratadas con el solvente 4 dietilenglicol monoetil éter acetato, el cual degrada la cobertura de poliestireno de éstas, liberando las moléculas fluorescentes a la fase solvente. La fluorescencia de los flujos de referencia y de los órganos estudiados se midió mediante un fluorímetro (Ls 55, Luminiscence Spectrometer, Perkin Elmer instruments, USA). El fluorímetro determina una cantidad de unidades de fluorescencia, de una determinada longitud de onda, para cada periodo

experimental. La cantidad de fluorescencia leída de cada órgano fetal, al ser comparada con su flujo de referencia ya sea para el hemicuerpo superior (cerebro y corazón) o inferior (glándulas suprarrenales, riñones y flujo umbilical), los que poseen un flujo sanguíneo determinado, nos permite estimar el flujo sanguíneo de los órganos fetales.

Los flujos sanguíneos y las resistencias vasculares de los órganos fetales se obtuvieron de acuerdo a la siguientes fórmulas:

Cálculo del flujo sanguíneo de un órgano fetal:

$$FS \text{ OrX (mL / min)} = \frac{FS \text{ OrR (mL / min)} \times \text{FLUORES OrX (U Fluorescencia)}}{\text{FLUORES OrR (U Fluorescencia)}}$$

Donde: FS OrX = Flujo sanguíneo del órgano a medir (X)
 FS OrR = Flujo sanguíneo órgano Referencia (sangre hemicuerpo inferior y superior)
 FLUORES OrX = Fluorescencia de órgano X
 FLUORES OrR = Fluorescencia órgano Referencia.

Los flujos sanguíneos de los órganos fetales fueron expresados en mL x min⁻¹ x 100 g⁻¹ de tejido y el flujo sanguíneo umbilical en mL x min⁻¹ x kg⁻¹ de peso corporal fetal.

Cálculo de la resistencia vascular umbilical:

$$RV \text{ Um (mmHg x mL}^{-1} \text{ x min x kg)} = \frac{(PAM \text{ (mmHg)} - PVM \text{ (mmHg)})}{FS \text{ Um (mL x min}^{-1} \text{ x kg}^{-1})}$$

Cálculo de la resistencia vascular de los órganos fetales:

$$RV \text{ Or (mmHg x mL}^{-1} \text{ x min x 100 gr)} = \frac{(PAM \text{ (mmHg)} - PVM \text{ (mmHg)})}{FS \text{ Or (mL x min}^{-1} \text{ x 100 g}^{-1})}$$

Cálculo de la resistencia vascular carotídea y femoral:

$$RVC \text{ (mmHg x mL}^{-1} \text{ x min x kg)} = \frac{(PAM \text{ (mmHg)} - PVM \text{ (mmHg)})}{FSC \text{ (mL x min}^{-1} \text{ x kg}^{-1})}$$

$$RVF \text{ (mmHg x mL}^{-1} \text{ x min x kg)} = \frac{(PAM \text{ (mmHg)} - PVM \text{ (mmHg)})}{FSF \text{ (mL x min}^{-1} \text{ x kg}^{-1})}$$

Donde: RVUm = Resistencia vascular Umbilical
RVOrX = Resistencia vascular órgano X
RVC = Resistencia vascular carotídea
RVF = Resistencia vascular femoral
PAM = Presión arterial media
PVM = Presión venosa media
FS Um = Flujo sanguíneo umbilical
FS Or = Flujo sanguíneo de un órgano X
FSC = Flujo sanguíneo carotídeo
FSF = Flujo sanguíneo femoral

El aporte de O₂ a los órganos fetales, es igual a:

$$\text{Aporte O}_2 \text{ OrX (mL O}_2 \text{ x min}^{-1} \text{ x 100g}^{-1}) = \text{Cont. O}_2 \text{ (mLO}_2 \text{ / mL)} \times \text{FS OrX (mL x min}^{-1} \text{ x 100g}^{-1})$$

Donde: Aporte O₂ OrX = Aporte de oxígeno a un órgano X
Cont. O₂ = Contenido arterial de oxígeno
FS OrX = Flujo sanguíneo de un órgano

6.4.4) Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante un test de análisis de varianza de dos vías de mediciones repetidas, para comparaciones intragrupo y comparaciones intergrupo, seguido de un test de *Newman-Keuls* como prueba de comparaciones. Para comparar los pesos de los fetos se utilizó un test de t no pareado. Se consideró como significativo un $p \leq 0,05$ (Glantz y Slinker, 2001).

Los resultados se expresaron como el promedio \pm error estándar de la media (ESM).

7. RESULTADOS

7.1) Peso corporal

Los fetos de TA presentaron un peso significativamente menor ($p \leq 0,05$) que los fetos de TB (2.740 ± 130 g vs. 3.330 ± 190 g respectivamente), a los 133 ± 3 días de gestación, lo que significó un 17,7 % de menos peso en comparación con los fetos de TB.

7.2) Estado ácido base y gases arteriales

7.2.1) pH y gases arteriales fetales

Durante el período basal, los fetos de TA presentaron una P_{aO_2} , P_{aCO_2} , y Sat Hb menor ($p \leq 0,05$) y una mayor [Hb] ($p \leq 0,05$) que el grupo de TB, mientras que, el Cont O_2 y pH fueron similares entre ambos grupos. Durante la hipoxemia aguda, se observó una reducción significativa de la P_{aO_2} , Sat Hb y Cont O_2 en ambos grupos, siendo la caída de P_{aO_2} más intensa en los fetos de TA ($p \leq 0,05$). Se observó además, durante dicho período una leve acidosis en los fetos de TB, por lo que el pH fue más alcalino en los fetos de TA y, tanto la PCO_2 como la [Hb], se mantuvieron a nivel del período basal. Durante el período de recuperación, la P_{aO_2} , Sat Hb y el Cont O_2 , volvieron a valores similares a los observados durante su período basal en ambos grupos, mientras que, la condición ácido-básica se mantuvo igual que en el período de hipoxemia (Tabla 1).

7.2.2) pH y gases arteriales maternos

Durante el período basal las ovejas preñadas de TA, mostraron una P_aO_2 , P_aCO_2 y Sat Hb significativamente menor, y una [Hb] mayor ($p \leq 0,05$) que las ovejas de TB. En el período de hipoxemia aguda hubo una caída significativa de la P_aO_2 y la Sat Hb en el grupo de ovejas de TB ($p \leq 0,05$) respecto a su basal, mientras que el Cont O_2 cayó significativamente ($p \leq 0,05$) en ambos grupos experimentales. Posteriormente, en la recuperación, todas las variables volvieron a sus valores basales (Tabla 2).

7.3) Respuesta cardiovascular fetal y materna

7.3.1) Presión arterial media y frecuencia cardíaca fetal

En la Figura 1 se muestra la PAM y la FC fetal en forma continua durante el protocolo experimental. En los primeros 20 minutos del período basal, la PAM fue significativamente mayor ($p \leq 0,05$) en TB, mientras que, en el resto del mismo período esta no fue significativamente diferente. Durante el episodio de hipoxemia aguda, la PAM no se modificó en el grupo de TA, mientras que, en el de TB esta aumentó significativamente ($p \leq 0,05$) en relación a su basal y a TA. En el período de recuperación, la PAM siguió significativamente ($p \leq 0,05$) aumentada en los fetos de TB respecto de su basal y en los de TA, esta aumentó significativamente ($p \leq 0,05$) con respecto a su basal (Figura 1). En el promedio de la FC por períodos, no se observaron diferencias significativas entre ambos grupos, sin embargo, esta fue levemente mayor en TA durante el período basal y de hipoxemia. Al comienzo de la hipoxemia aguda, se observó en TB una bradicardia inicial leve y transitoria, seguido de un aumento

significativo ($p \leq 0,05$) de la FC, en relación a su valor basal, aumento que se mantuvo durante la recuperación (Figura 1).

7.3.2) Flujo sanguíneo y resistencia vascular carotídea fetal

Durante el período basal, los fetos de TA presentaron un flujo sanguíneo carotídeo (FSC) levemente mayor y una resistencia vascular carotídea (RVC) menor ($p \leq 0,05$) que los de TB. Durante la hipoxemia aguda, se observó un aumento significativo ($p \leq 0,05$) del FSC sólo en el grupo de TB, el que volvió a su valor basal en la recuperación. Por su parte, la RVC cayó significativamente ($p \leq 0,05$) durante la hipoxemia y la recuperación, en relación a su basal en el grupo de TB (Figura 2).

7.3.3) Flujo sanguíneo y resistencia vascular femoral fetal

Durante el período basal, el flujo sanguíneo femoral (FSF) fue significativamente mayor ($p \leq 0,05$) en el grupo de TA, sólo durante los primeros 40 min, mientras que la resistencia vascular femoral (RVF) no mostró diferencias en el mismo período, entre ambos grupos. Durante la hipoxemia aguda, el FSF y la RVF se mantuvieron en los niveles basales en los fetos de TA, lo que contrastó con la fuerte caída ($p \leq 0,05$) del FSF y el incremento ($p \leq 0,05$) de la RVF, observados en los fetos de TB, observados durante el mismo período. En el período de recuperación, tanto el FSF como la RVF de ambos grupos, volvieron a valores similares a sus basales (Figura 3).

7.3.4) Presión de líquido amniótico

El valor promedio de la presión de líquido amniótico (PLA) en los fetos de TA y TB durante el período basal fue de $6,4 \pm 1,0$ y $8,5 \pm 1,4$ respectivamente. Esta variable no se modificó en ninguno de los períodos del protocolo experimental

7.4) Flujos sanguíneos, resistencia vascular y aporte de oxígeno a órganos fetales

7.4.1) Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno cerebral fetal

En condiciones basales, el flujo sanguíneo, la resistencia vascular y el aporte de O_2 al cerebro, fue similar en ambos grupos de fetos (Figura 4). Durante el episodio de hipoxemia aguda, se observó un aumento significativo ($p \leq 0,05$) del flujo sanguíneo cerebral en ambos grupos, con respecto a su basal, siendo este aumento relativamente mayor en TB que en TA (119 % y 55 % respectivamente). A su vez, durante la hipoxemia aguda, la resistencia vascular cerebral cayó significativamente ($p \leq 0,05$) y el aporte de O_2 se mantuvo en ambos grupos. Durante la recuperación, el flujo sanguíneo y la resistencia vascular cerebral retornaron a sus valores basales y el aporte de O_2 no se modificó (Figura 4).

7.4.2) Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno de corazón fetal

En la Figura 5 se muestra el flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de O₂ cardíaco de los fetos de TA y TB. En el período basal, no se observaron diferencias entre ambos grupos en estas variables. Durante la hipoxemia aguda, el flujo sanguíneo al corazón aumentó significativamente ($p \leq 0,05$) en TA y TB con respecto a su valor basal (220 % y 298 % respectivamente) y a su recuperación. Por su parte, la resistencia vascular cardíaca, cayó significativamente ($p \leq 0,05$) durante la hipoxemia, sólo en el grupo de TA con respecto a su basal, mientras que, en TB presentó sólo una caída relativa. Durante la recuperación, el flujo sanguíneo y la resistencia vascular cardíaca lograron valores similares a los observados antes de la hipoxemia. Por su parte, el aporte de O₂ no mostró variaciones en ambos grupos, durante los diferentes períodos experimentales.

7.4.3) Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno adrenal fetal

Durante el registro basal, el flujo sanguíneo adrenal no fue significativamente diferente entre ambos grupos, sin embargo, este fue levemente mayor en el grupo de TA y tanto la resistencia vascular, como el aporte de O₂ no presentaron diferencias entre ambos grupos. Durante el período de hipoxemia, el flujo sanguíneo adrenal aumentó significativamente ($p \leq 0,05$) en ambos grupos, aumento que fue de un 100 % en los fetos de TA y de un 200 % en TB, con respecto a sus valores basales, sin embargo, no presentaron diferencias significativas entre ambos grupos en este período. Además, durante la hipoxemia la resistencia vascular cayó significativamente (p

$\leq 0,05$) en ambos grupos en relación a sus basales respectivos. Durante el período de recuperación, el flujo sanguíneo adrenal se mantuvo elevado en TB con respecto a su basal, mientras que, en TA este volvió a su nivel basal. Por su parte, la resistencia vascular volvió a sus niveles basales en ambos grupos y el aporte de O_2 cayó significativamente ($p \leq 0,05$) en TA, respecto a sus períodos basal e hipoxemia, a diferencia de lo observado en los fetos de TB donde este se mantuvo (Figura 6).

7.4.4) Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno renal fetal

Durante el período basal el flujo sanguíneo, la resistencia vascular y el aporte de O_2 renales no presentaron diferencias significativas entre ambos grupos. Por su parte, durante el período de hipoxemia no se registraron cambios tanto en el flujo sanguíneo, como en la resistencia vascular en el grupo de TA, mientras que, en TB hubo una disminución relativa del flujo sanguíneo renal, acompañada de un aumento significativo ($p \leq 0,05$) de la resistencia vascular. Además, durante la hipoxemia el aporte de O_2 cayó significativamente ($p \leq 0,05$) en ambos grupos, en relación a sus valores basales respectivos. Durante la recuperación, no se observaron diferencias significativas en estas variables entre ambos grupos, sin embargo, el flujo y el aporte de O_2 tendieron a ser mayores y la resistencia vascular menor en el grupo de TB (Figura 7).

7.4.5) Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno umbilical fetal

Durante el período basal, no se observaron diferencias significativas en el flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de O_2 umbilicales entre ambos

grupos de fetos, sin embargo, los fetos de TA mostraron un flujo sanguíneo y un aporte de O₂ levemente menor y una resistencia vascular ligeramente mayor que los fetos de TB. Durante el período de hipoxemia, el flujo sanguíneo umbilical fue significativamente menor ($p \leq 0.05$) y la resistencia vascular fue mayor ($p \leq 0.05$) en los fetos de TA que en los de TB, diferencias que tendieron a acentuarse durante la recuperación. El aporte de O₂ durante la hipoxemia cayó ($p \leq 0,05$) en los 2 grupos, siendo esta caída más marcada ($p \leq 0,05$) en el grupo de TA que en TB. Por su parte, durante la recuperación, el aporte de O₂ fue significativamente mayor ($p \leq 0,05$) en el grupo de TB que en el de TA (Figura 8).

7.5) Variables cardiovasculares continuas maternas

La PAM materna fue significativamente ($p \leq 0,05$) más baja en las ovejas de TA, durante el periodo basal y de hipoxemia, mientras que, en la recuperación esta fue sólo levemente mayor. Por su parte, la FC durante el período basal no fue diferente entre ambos grupos. Durante el episodio de hipoxemia, la FC no se modificó en las madres de TA, mientras que en las de TB, esta aumentó significativamente ($p \leq 0,05$) en relación a su valor basal y a su recuperación, para luego volver a valores similares a los observados en el período basal, durante la recuperación (Figura 9).

Tabla 1. Gases sanguíneos de arteria carótida en fetos ovinos de tierras bajas (TB) y tierras altas (TA) durante hipoxemia aguda.

		BASAL	HIPOXEMIA	RECUPERACION
pH	TB	7,416 ± 0,007	7,354 ± 0,022 *	7,346 ± 0,019 *
	TA	7,436 ± 0,007	7,413 ± 0,008 a	7,414 ± 0,007 a
PaO ₂ (mmHg)	TB	23,4 ± 1,0	14,6 ± 0,6 †	23,9 ± 1,1
	TA	14,8 ± 1,0 a	11,7 ± 0,3 † a	14,9 ± 0,9 a
PaCO ₂ (mmHg)	TB	46,5 ± 1,3	44,2 ± 1,5	43,8 ± 1,6
	TA	34,3 ± 1,4 a	32,4 ± 1,4 a	32,4 ± 1,6 a
Hb (g dL ⁻¹)	TB	9,3 ± 0,3	9,4 ± 0,2	9,0 ± 0,3
	TA	11,1 ± 0,4 a	10,6 ± 0,3 a	10,7 ± 0,3 a
Sat Hb (%)	TB	59,2 ± 2,0	25,5 ± 2,6 †	53,0 ± 2,8
	TA	42,3 ± 4,5 a	28,4 ± 1,3 †	42,2 ± 4,3 a
Cont O ₂ (mL O ₂ dL ⁻¹)	TB	7,3 ± 0,1	3,2 ± 0,3 †	6,4 ± 0,4
	TA	6,2 ± 0,7	4,1 ± 0,3 †	6,0 ± 0,6

Prom. ± ESM. *, p ≤ 0,05 vs Basal; †, p ≤ 0,05 vs Basal y Recuperación; a, p ≤ 0,05 vs. tierras bajas; n TB = 8, n TA = 7.

Tabla 2. Gases sanguíneos de arteria femoral en madres ovinas de tierras bajas (TB) y tierras altas (TA) durante hipoxemia aguda.

		BASAL	HIPOXEMIA	RECUPERACION
pH	TB	7,484 ± 0,018	7,485 ± 0,019	7,504 ± 0,015
	TA	7,515 ± 0,012	7,511 ± 0,014	7,501 ± 0,016
PaO ₂ (mmHg)	TB	100,4 ± 3,3	51,6 ± 4,8 †	107,7 ± 5,2 *
	TA	48,0 ± 1,7 a	43,6 ± 2,6	48,8 ± 0,8 a
PaCO ₂ (mmHg)	TB	32,2 ± 1,0	31,1 ± 1,2	30,7 ± 1,5
	TA	25,5 ± 1,4 a	23,9 ± 1,1 a	23,8 ± 0,5 a
Hb (g dL ⁻¹)	TB	9,1 ± 0,5	8,9 ± 0,5	9,1 ± 0,6
	TA	11,7 ± 0,4 a	11,3 ± 0,3 a	11,4 ± 0,3 a
Sat Hb (%)	TB	100,0 ± 0,9	76,8 ± 3,9 †	100,0 ± 0,6
	TA	80,7 ± 3,4 a	74,9 ± 2,5	81,9 ± 2,6 a
Cont O ₂ (mL O ₂ dL ⁻¹)	TB	12,2 ± 0,7	10,1 ± 0,9 †	12,3 ± 0,9
	TA	12,3 ± 0,4	11,1 ± 0,5 †	12,0 ± 0,6

Prom. ± ESM. *, p ≤ 0,05 vs Basal; †, p ≤ 0,05 vs Basal y Recuperación; a, p ≤ 0,05 vs. Tierras bajas; n TB = 8; n TA = 7.

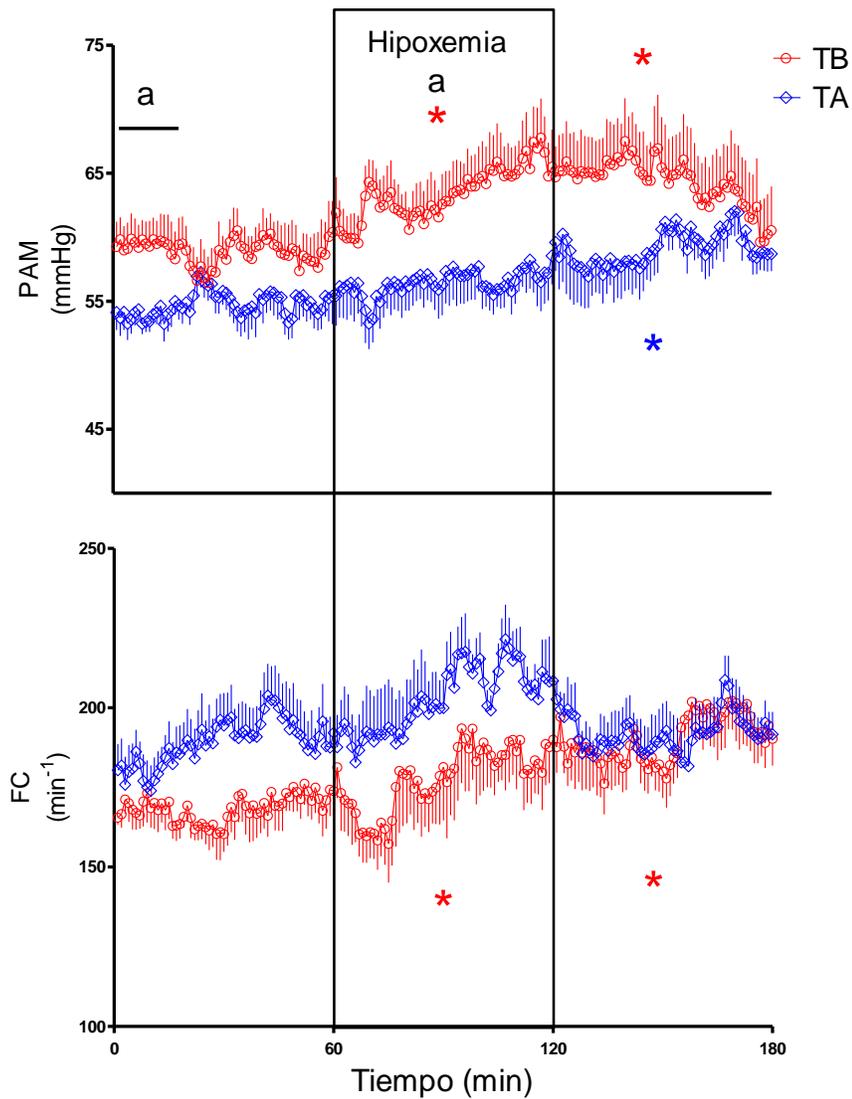


Figura 1: Frecuencia cardíaca y presión arterial media, en fetos ovinos de tierras bajas (TB) y de tierras altas (TA), durante hipoxemia aguda.

Los resultados son expresados como promedios \pm ESM, *, $p \leq 0,05$ vs. Basal; a, $p \leq 0,05$ vs. TB; n TB = 8, n TA = 7.

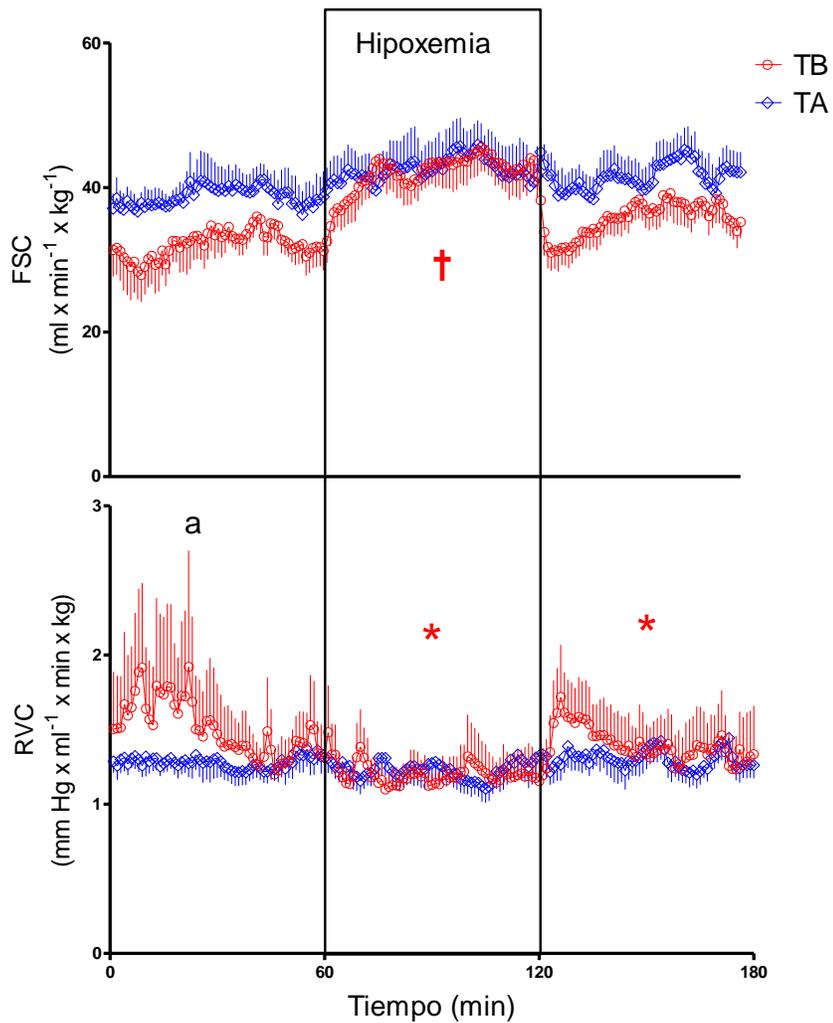


Figura 2: Flujo sanguíneo y resistencia vascular carotídea, en fetos ovinos de tierras altas (TA) y de tierras bajas (TB), durante hipoxemia aguda. Los resultados son expresados como promedios \pm ESM; *, $p \leq 0,05$ vs. Basal; a, $p \leq 0,05$ vs. TB; †, $p \leq 0,05$ vs. Basal y Recuperación del mismo grupo; n TB = 7; n TA = 7.

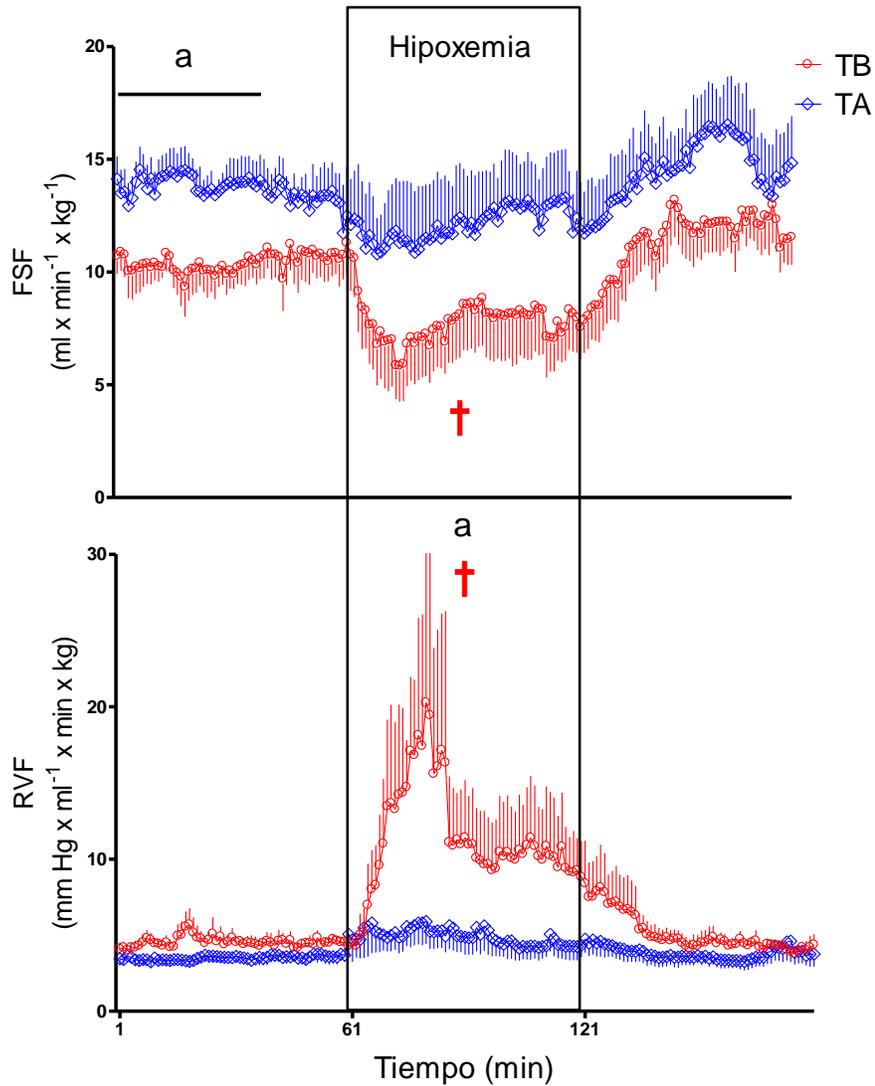


Figura 3: Flujo sanguíneo y resistencia vascular femoral, en fetos ovinos de tierras altas (TA) y tierras bajas (TB), durante hipoxemia aguda.

Los resultados son expresados como promedios \pm ESM, †, $p \leq 0,05$ vs. Basal y Recuperación del mismo grupo ; $n TB = 5$; $n TA = 5$.

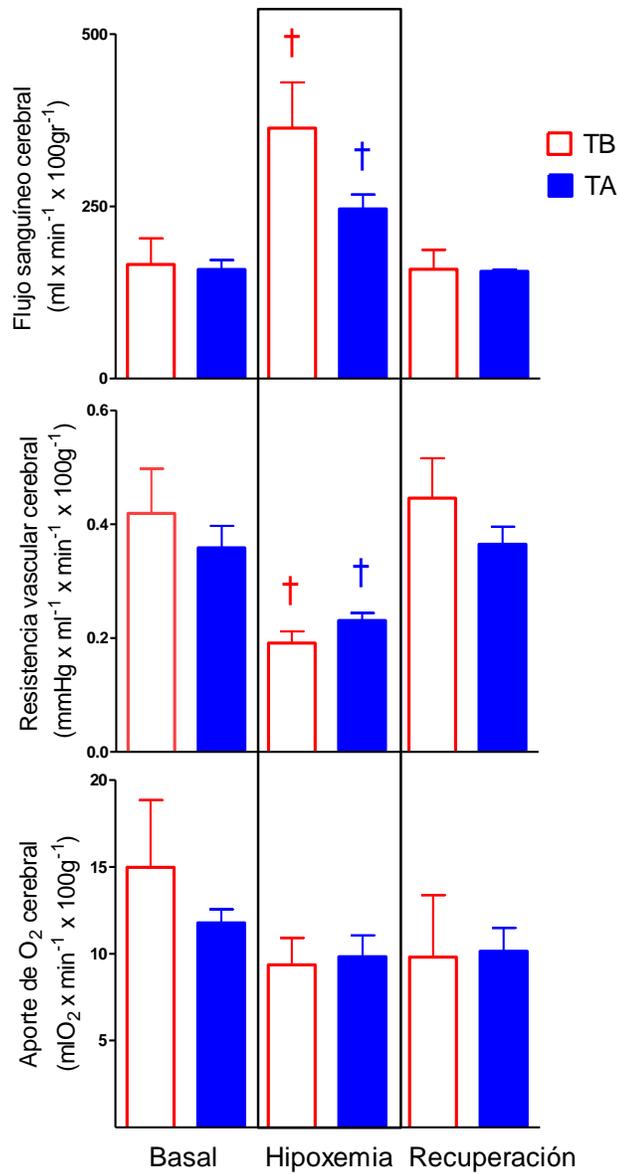


Figura 4: Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno cerebral, en fetos ovinos de tierras altas (TA) y tierras bajas (TB), durante hipoxemia aguda. Los resultados son expresados como promedios \pm ESM; †, $p \leq 0,05$ vs. Basal y Recuperación del mismo grupo; n TB = 6; n TA = 4.

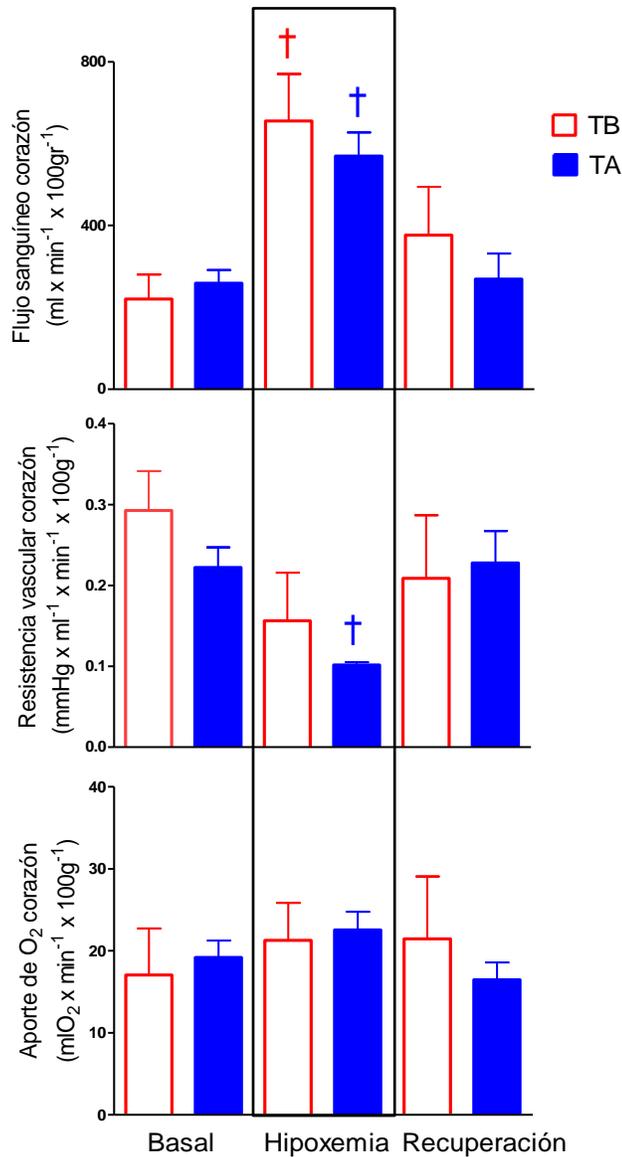


Figura 5: Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno al corazón, en fetos ovinos de tierras altas (TA) y tierras bajas (TB), durante hipoxemia aguda. Los resultados son expresados como promedios \pm ESM; †, $p \leq 0,05$ vs. Basal y Recuperación del mismo grupo; TB = 6, n TA = 4.

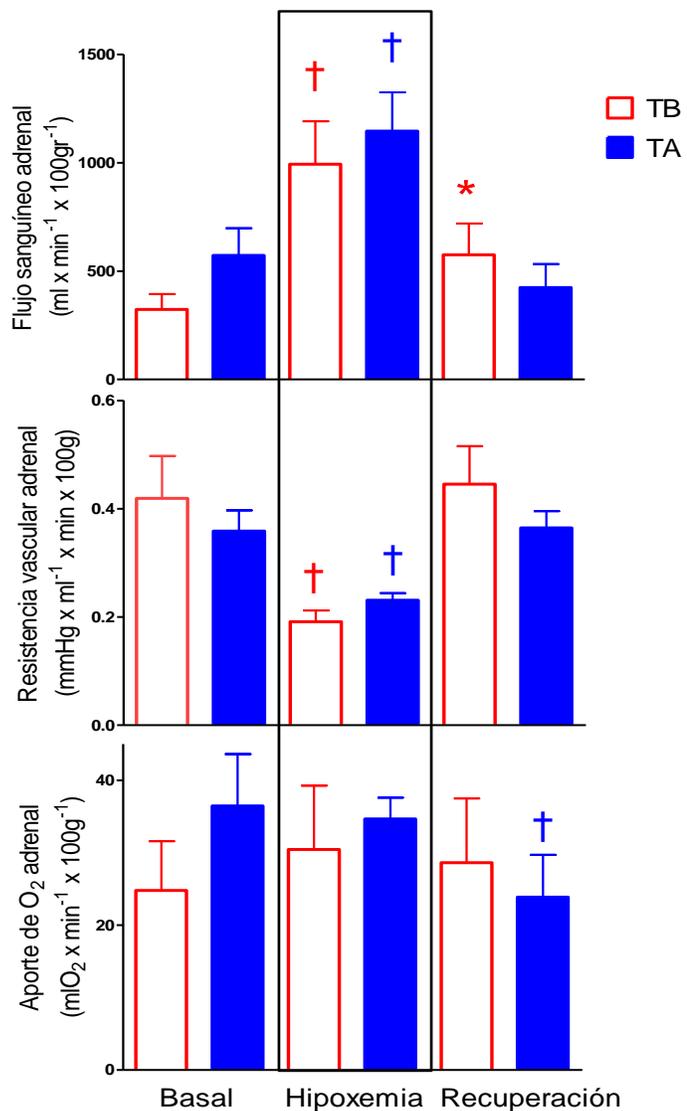


Figura 6: Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno a las glándulas adrenales, en fetos ovinos de tierras altas (TA) y tierras bajas (TB), durante hipoxemia aguda. Los resultados son expresados como promedios \pm ESM; †, $p \leq 0,05$ vs. Basal y Recuperación; *, $p \leq 0,05$ vs. Basal; n TB = 6; n TA = 4.

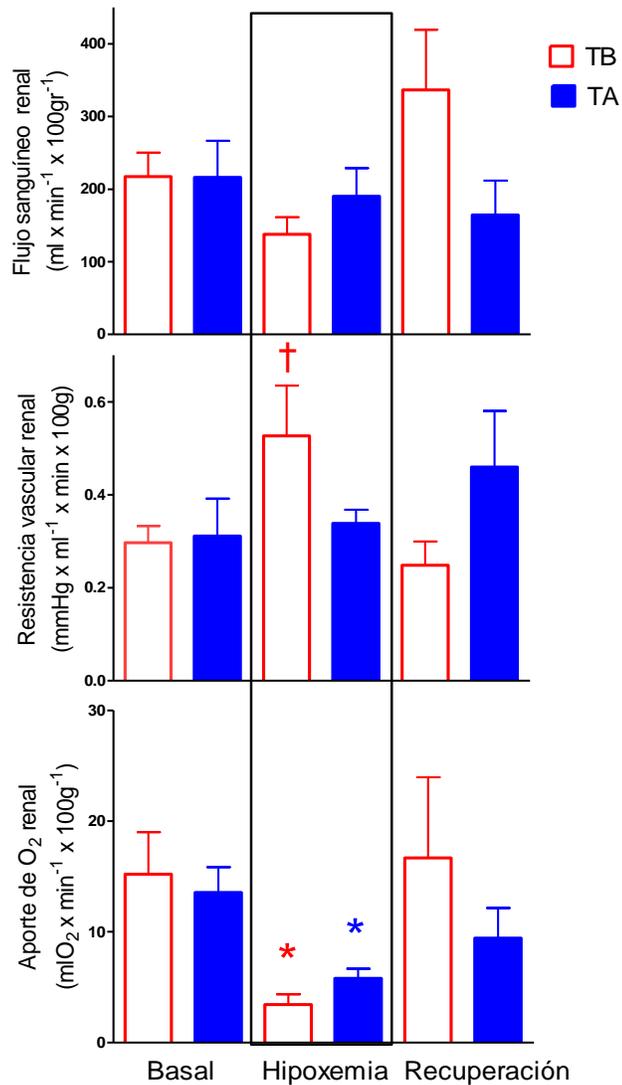


Figura 7: Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno renal, en fetos ovinos de tierras altas (TA) y tierras bajas (TB), durante hipoxemia aguda. Los resultados son expresados como promedios \pm ESM; †, $p \leq 0,05$ vs. Basal y Recuperación del mismo grupo; *, $p \leq 0,05$ vs. Basal; n TB = 6; n TA = 4.

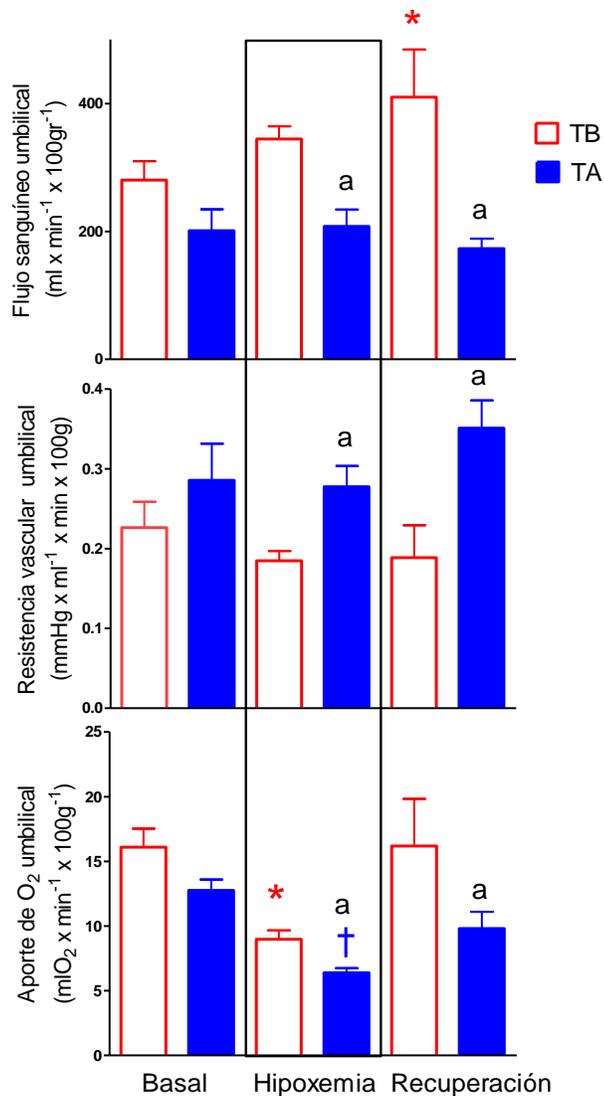


Figura 8: Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno umbilical, en fetos ovinos de tierras altas (TA) y tierras bajas (TB), durante hipoxemia aguda. Los resultados son expresados como promedios \pm ESM; †, $p \leq 0,05$ vs. Basal y Recuperación del mismo grupo; *, $p \leq 0,05$ vs. Basal; a, $p \leq 0,05$ vs. TB, n TB = 4; n TA = 4.

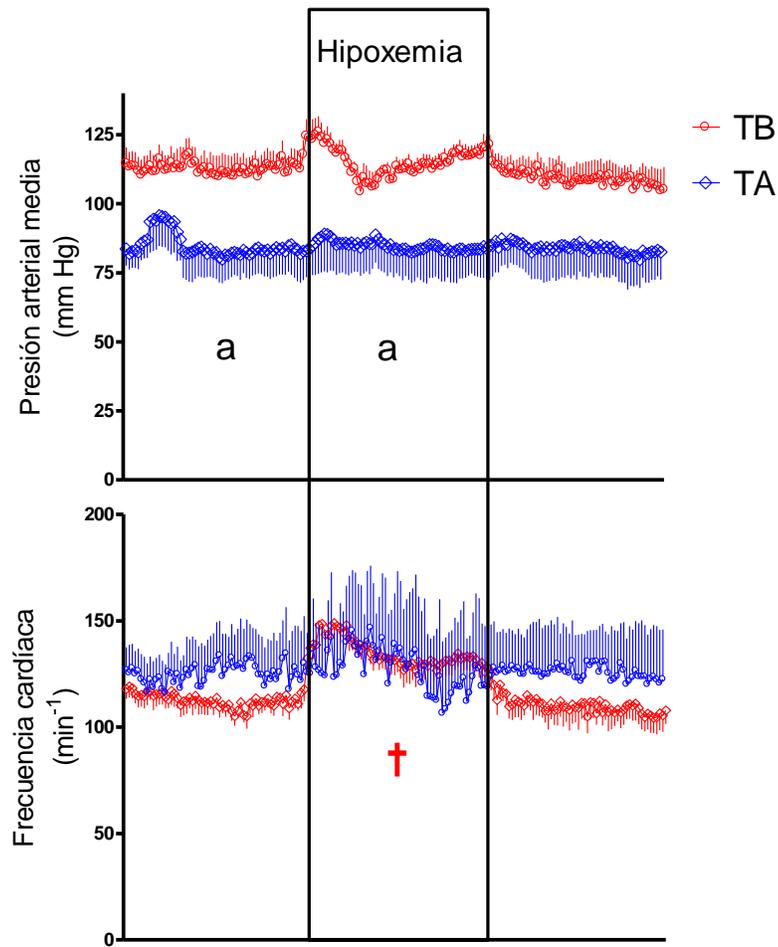


Figura 9: Frecuencia cardíaca y presión arterial media sistémica, en ovejas preñadas de tierras altas (TA) y tierras bajas (TB), durante hipoxemia aguda. Los resultados son expresados como promedios \pm ESM; †, $p \leq 0,05$ vs. Basal y Recuperación del mismo grupo; a, $p \leq 0,05$ vs. TB; n TB = 5, n TA = 4

8. DISCUSIÓN

8.1) Restricción de crecimiento corporal

La restricción de crecimiento intrauterino registrada en nuestros fetos, puede ser atribuida principalmente a la disminución del aporte de oxígeno, ya que el aporte nutritivo a la madre fue similar en TA y TB. La disminución de un 17,7 %, observada en el peso corporal en los fetos de TA (3.580 m.s.n.m.) en comparación con los de TB, concuerda con la disminución observada de un 21 % en el peso corporal en fetos ovinos sometidos a hipoxemia crónica, entre el día 30 y el día 135 de gestación, bajo una presión atmosférica equivalente a 4.500 m.s.n.m. (Jacobs, *et. al.*, 1988). A su vez, Parraguez *et. al.* (2005), observaron en recién nacidos ovinos sometidos a hipoxemia crónica de altura (3.589 m.s.n.m.) durante toda su gestación, una reducción de un 26 a 29 % en el peso al nacimiento. La diferencia, en el porcentaje de reducción en el peso, entre nuestro trabajo y el de Parraguez *et. al.* (2005), lo atribuimos al crecimiento experimentado por los fetos, entre el día 133 ± 3 de gestación que fue la edad a la que pesamos nuestros fetos y el nacimiento, momento en que Parraguez *et. al.* (2005) registraron los pesos.

La disminución en el peso corporal en el feto ovino, sometido a hipoxemia crónica, puede ser explicado por una disminución en la síntesis de proteínas, ya que luego de pocas horas de instaurada una hipoxemia, esta disminuye, lo que reduce el consumo de oxígeno fetal en un 10 % (Richardson y Bocking, 1998). Además, en cobayas preñadas la hipoxemia crónica de altura altera el normal crecimiento de la arteria uterina durante la preñez (Moore *et. al.*, 2001a), lo que limita el flujo sanguíneo hacia el útero grávido y disminuye el aporte de O₂ y de

nutrientes al feto, lo que se relaciona directamente con restricción de crecimiento intrauterino.

8.2) pH y gases arteriales sanguíneos fetales y maternos

Tanto en los fetos como en las madres de TA, se registró una menor P_{aO_2} que en el grupo de TB, durante los tres períodos experimentales y la Sat Hb fue menor durante período basal y la recuperación. Esta menor P_{aO_2} y Sat Hb, tanto en los fetos como en sus madres observadas en TA, son debidas al efecto directo que ejerce la altitud sobre la P_{aO_2} , ya que, a medida que esta aumenta, la presión barométrica disminuye, por lo que cae la presión de O_2 ambiental y alveolar, y también la presión parcial de O_2 de equilibrio en el capilar pulmonar. Disminuye la diferencia de presiones de O_2 entre el alvéolo y los capilares pulmonares, lo que provoca una menor difusión de este gas a través de la membrana alveolar (West, 2000). La P_{aO_2} aórtica materna en TA cayó de $100,4 \pm 3,3$ a $48 \pm 1,7$ mmHg y a nivel de placenta ocurre un fenómeno parecido al pulmón, lográndose un equilibrio con la vena umbilical a una menor P_{aO_2} . Este fenómeno se refleja en la arteria carótida fetal con una P_{aO_2} de $14,8 \pm 1$ mmHg, una situación francamente hipoxémica con respecto a los controles de tierras bajas que tienen $23,4 \pm 1$ mmHg.

La P_{aCO_2} fue menor, tanto en los fetos como en las madres de TA, durante los tres períodos experimentales. Esto debido a que los humanos y animales, entre ellos los ovinos, presentan un aumento en la ventilación alveolar en la altitud, lo que junto a la alta capacidad de difusión que posee este gas, facilita la eliminación de éste, tanto en las madres como en los fetos (West, 2000).

La leve acidemia observada en los fetos de TB durante la hipoxemia aguda, podría haberse originado por glicólisis anaeróbica, ya que esta es la principal

respuesta metabólica al déficit de O₂, la que conlleva producción de ácido láctico, que se acumula en la sangre y en los tejidos, y conduce a una acidemia metabólica progresiva (Llanos y Riquelme, 1997). La mantención de la acidemia durante la recuperación, en los fetos de TB, se atribuye al reestablecimiento del flujo sanguíneo hacia la carcaza, provocando el paso del ácido láctico contenido en la musculatura hacia la circulación fetal prolongando la acidemia. Sin embargo, no se observó acidemia en los fetos de TA, ya que en general las adaptaciones circulatorias a la hipoxia aguda en fetos con hipoxia crónica se encuentra disminuida, como se verá en este trabajo.

El aumento en la [Hb] observado, tanto en los fetos como en las madres de TA, durante los tres períodos experimentales, en relación a sus grupos controles respectivos, se explica debido a que la hipoxemia crónica de altura, induce la producción de eritropoyetina, aumentando la concentración de Hb e incrementando la capacidad de transporte de O₂ por la sangre, tanto materna (Llanos, 1992) como fetal (Kitanaka *et. al.*, 1989). Se ha descrito que fetos ovinos sometidos a hipoxemia crónica durante 28 días (P_aO₂ fetal 19,1 ± 2,1), presentan un aumento semana a semana en la [Hb] y en el volumen eritrocitario, debido a un aumento en la producción de células rojas, dado por un incremento inicial de la eritropoyetina plasmática (Kitanaka *et. al.*, 1989). Además, fetos ovinos sometidos a hipoxemia crónica de altura, durante 105 días, mostraron un aumento en la [Hb] con respecto a sus controles (Kamitomo *et. al.*, 1993).

Por otra parte, en nuestro experimento, el Cont O₂ no se modificó entre TA y TB, tanto en los fetos como sus madres, lo que se explica debido al aumento en la concentración de Hb, que incrementó la capacidad de transporte de O₂ de la sangre arterial fetal y materna, inducido por la hipoxemia crónica (Llanos *et. al.*, 1980). De esta forma, dicho aumento es capaz de compensar la menor PO₂

atmosférica, manteniendo el Cont O₂ de la sangre arterial, tanto en el feto como en su madre en la altitud, pero no fue capaz de compensar la disminución del crecimiento corporal fetal, inducida por la hipoxemia crónica de altura.

8.3) Variables cardiovasculares fetales continuas

8.3.1) Frecuencia cardíaca y Presión arterial media

En esta Memoria, no se observó diferencias significativas en la frecuencia cardíaca basal entre ambos grupos, sin embargo, los fetos de TA presentaron una FC levemente mayor que los de TB, en el período basal y de hipoxemia. Esta levemente mayor FC observada en TA, se explicaría por un aumento en los niveles plasmáticos de catecolaminas circulantes, ya que, la vida en la altitud involucra un aumento en la actividad del sistema nervioso simpático, con aumento de la frecuencia cardíaca (Hainsworth y Drinkhill, 2007). Al comienzo de la hipoxemia aguda se observó en el grupo de TB, una bradicardia leve y transitoria, la que tiene un origen reflejo, por la rapidez con la que se instaura (Giussani, *et al.*, 1993) y cuya vía eferente es el nervio vago, ya que, tanto la vagotomía (Boddy, *et al.*, 1974) como el bloqueo muscarínico (Giussani, *et al.*, 1993) previenen esta respuesta. La bradicardia al inicio de la hipoxemia, podría ser una respuesta protectora del feto para disminuir el consumo de O₂ del miocardio, frente a una caída aguda en la oxigenación (Hanson, 1997). Por su parte, la bradicardia inicial se continuó con un aumento en la FC en los fetos de TB, durante la hipoxemia y la recuperación. Este incremento de la FC se produce por estimulación del sistema nervioso simpático, con liberación de catecolaminas a la circulación (Giussani, *et al.*, 1993), las que actúan sobre los receptores β -adrenérgicos del miocardio, produciendo taquicardia, la que se mantuvo durante la recuperación, debido posiblemente a la mantención de altos niveles de catecolaminas plasmáticas circulantes.

La menor PAM observada durante los primeros 20 min del período basal, en los fetos de TA, podría explicarse debido a un tono nitrérgico aumentado por esta condición (Herrera *et. al.*, 2007) y al efecto que ejerce la hipoxemia crónica de altura en el endotelio vascular, donde deprime la musculatura lisa vascular y la respuesta endotelial en el feto ovino (Longo, *et. al.*, 1993). Por otra parte, el aumento de la PAM observado en los fetos de TB, durante la hipoxemia aguda, se explica por un aumento en la resistencia vascular periférica, debido principalmente a la vasoconstricción de la carcasa (Llanos, 1992) y a la vasoconstricción arteriolar del intestino, bazo, hígado y riñones fetales, como se verá mas adelante, los que contribuyen en menor grado, al aumento de ésta (Cohn, *et. al.*, 1974). Dicho incremento en la resistencia vascular periférica, se produce por estimulación del sistema nervioso simpático, en las terminaciones α -adrenérgicas de los vasos de resistencia periféricos con vasoconstricción y el consiguiente aumento de la PAM. También existe una liberación mas tardía de catecolaminas desde la médula suprarrenal, la que puede ser mantenida en el tiempo (Giussani, *et. al.*, 1993), las que inducen vasoconstricción periférica y aumento de la PAM. La importancia del sistema nervioso simpático se ha demostrado, ya que, el bloqueo de los receptores α -adrenérgicos, con fentolamina, inhibe el aumento en la presión de perfusión (Giussani, *et. al.*, 1993) y la simpatectomía química deprime la vasoconstricción periférica, en fetos ovinos sometidos a hipoxemia aguda (Iwamoto, *et. al.*, 1983). Por otra parte, existen otras sustancias que son liberadas a la circulación frente a hipoxemia aguda, que poseen importantes efectos en la PAM y en la mantención de esta respuesta en el tiempo y que podrían estar involucradas en la respuesta observada. La AII es importante en la mantención de la PAM, ya que produce una vasoconstricción tónica de la circulación periférica (Iwamoto y Rudolph, 1979). La infusión con NPY exógeno, imita la respuesta cardiovascular a la asfixia (Sanhueza, *et. al.*, 2003). A su vez, la infusión de cortisol produce un incremento en la presión sanguínea arterial, independiente

de otras hormonas vasoconstrictoras (Wood, *et. al.*, 1987). Por su parte, AVP produce vasoconstricción intestinal, ya que su antagonista produjo un aumento en el flujo sanguíneo intestinal (Pérez, *et. al.*, 1989). La mantención del aumento de la PAM en TB y el incremento de esta en TA, observados en la recuperación en relación a sus basales respectivos, lo atribuimos a la mantención de altos niveles plasmáticos de estas hormonas, cuyos efectos vasoconstrictores pueden ejercer su efecto durante algunas horas debido a su larga vida media en la circulación fetal (Giussani, *et. al.*, 1993).

Por su parte, a diferencia de lo observado en TB, en TA los fetos no presentaron cambios en la PAM durante la hipoxemia aguda. Este hecho podría deberse a la desensibilización de los receptores adrenérgicos, frente a la estimulación continua por los altos niveles de catecolaminas circulantes, inducido por la hipoxemia crónica de altura, ya sea por internalización del receptor o *downregulation* (Morris, *et.al.*, 2008), o a otros cambios endocrinos inducidos por esta condición (Hanson, 1997). Por otra parte, en un modelo de asfixia mediante oclusión total del cordón umbilical, en fetos ovinos sometidos a hipoxemia crónica de altura, se observó una mayor hipertensión y FC que su grupo control de TB (Imamura, *et. al.*, 2004). Esta observación contrasta con la respuesta observada en nuestro trabajo, lo que podría ser atribuido a las diferencias entre los modelos experimentales, ya que la asfixia fetal implica hipoxemia, hipercapnia, acidosis y una reducción marcada del flujo sanguíneo umbilical. De esta forma y dado que la acidemia aumenta la respuesta endocrina fetal (Wood y Chen, 1989), y la liberación de NPY (Sanhueza, *et. al.*, 2003), la diferencia en los resultados observados entre ambos experimentos, podría explicarse por la diferencia entre los modelos utilizados. Por otra parte, se ha demostrado que la hipoxemia crónica de altura tiene un notable efecto en el rol del NO en la circulación, como ocurre en la vasculatura pulmonar de recién nacidos de oveja (Herrera, *et al*, 2007) y que la hipoxemia crónica ejerce

un efecto directo sobre el endotelio vascular, deprimiendo la musculatura lisa vascular y la respuesta endotelial en el feto ovino (Longo, *et. al.*, 1993), estos efectos podrían ser los responsables en gran parte, de la poca respuesta de la PAM observada en los fetos de TA. Además, una respuesta vasoconstrictora endotelial disminuida, podría explicar la taquicardia observada en TA, durante la hipoxemia aguda y la recuperación.

8.3.2) Flujo sanguíneo y resistencia vascular carotídea y femoral

El flujo sanguíneo carotídeo levemente mayor y la menor resistencia vascular carotídea observadas durante el período basal en TA, podrían atribuirse a que fetos ovinos expuestos a hipoxemia crónica de altura presentan una mantención de la redistribución del gasto cardiaco ventricular combinado fetal, que favorece el flujo sanguíneo hacia el cerebro (Kamitomo, *et. al.*, 1993), con aumento del flujo sanguíneo carotídeo (Giussani, *et. al.*, 1993). Por su parte, en fetos ovinos sometidos a hipoxemia aguda se describe un aumento del flujo sanguíneo carotídeo, con mantención en la resistencia vascular carotídea (Giussani, *et. al.*, 1993), lo que es consistente con el aumento del flujo sanguíneo carotídeo, observado en TB en el presente trabajo. A su vez, el casi nulo aumento del flujo sanguíneo carotídeo y la mantención de la resistencia vascular carotídea durante la hipoxemia aguda en los fetos TA, podría explicarse por la mayor dilatación que este vaso tiene en condiciones basales por la hipoxemia crónica y el probable alto tono nitrérgico de esta circulación ante la hipoxemia mantenida, quedando poca posibilidad para mayor dilatación de este ante una hipoxemia aguda. Además, la hipoxemia crónica de altura, reduce la respuesta contráctil a K^+ en el feto ovino, deprimiendo la musculatura lisa vascular y la respuesta endotelial en las arterias carótidas y cerebrales fetales (Longo, *et. al.*, 1993). Por otra parte, la respuesta atenuada del flujo sanguíneo carotídeo, en los fetos ovinos de TA, se asemeja a la respuesta

descrita en el feto de llama, una especie adaptada a la vida en altura durante varios miles de años, la que no presenta un aumento del flujo sanguíneo carotídeo frente a hipoxemia aguda (Llanos, *et. al.*, 1998), respuesta que sugirió la existencia de mecanismos celulares específicos para preservar la integridad cerebral, durante un déficit en la oxigenación en el feto de llama (Llanos, *et. al.*, 1998). Pensamos que este mecanismo adaptativo podría estar presente, en algún grado, en fetos provenientes de ovejas mantenidas en la altitud durante varias generaciones, las que podrían presentar algún grado de adaptación a esta condición. Sin embargo, este hecho no ha sido demostrado.

Por su parte, el mayor flujo sanguíneo femoral observado en los fetos de TA en los primeros 40 min del período basal, no coincide con la redistribución del gasto cardíaco ventricular combinado descrita en fetos expuestos a hipoxemia crónica (Kamitomo, *et. al.*, 1993), sino que más bien sugiere que la hipoxemia crónica podría alterar la vasculatura femoral, posiblemente debido a un aumento en la producción de NO, o a un efecto directo sobre la musculatura vascular y la función endotelial. Durante hipoxemia aguda, la disminución del flujo sanguíneo femoral y el aumento de la resistencia vascular femoral, observados en los fetos de TB, concuerdan con la caída del flujo sanguíneo femoral descrita en hipoxemia aguda (Dawes, *et. al.*, 1968). Esta es una respuesta refleja, censada por los quimiorreceptores carotídeos y mediada por el sistema α -adrenérgico, ya que, la denervación del seno carotídeo, del nervio ciático y el bloqueo α -adrenérgico, inhiben el aumento en la resistencia vascular femoral durante hipoxemia aguda (Giussani, *et. al.*, 1993).

En fetos ovinos expuestos a hipoxemia crónica de altura, al ser sometidos a hipoxemia aguda se ha descrito una menor reducción del flujo sanguíneo hacia la carcasa en TA que en TB (19 % y 31 % respectivamente, Kamitomo, *et. al.*, 1993). Esta atenuación en la respuesta constrictora hacia la carcasa, se

asemeja a la menor respuesta femoral observada en los fetos de TA durante la hipoxemia aguda, ya que el flujo sanguíneo femoral es un buen estimador del flujo sanguíneo hacia la carcasa (Giussani, *et. al.*, 1993). Por su parte, la mayor atenuación en la respuesta constrictora observada en nuestro trabajo, en comparación con la observada por Kamitomo, *et. al.* (1993), la atribuimos al mayor tiempo de exposición que tuvieron nuestros fetos a la altitud, puesto que, la hipoxemia crónica de altura afecta en distinto grado a los fetos ovinos, dependiendo del tiempo de exposición a la hipoxemia crónica de altura (Parraguez, *et. al.*, 2004). Por su parte, Herrera *et. al.* (2007), estudiaron la respuesta de arterias femorales pequeñas en recién nacidos ovinos, mantenidos durante toda su gestación y período posterior al nacimiento en TA, donde se observó que estas tienen una mayor respuesta máxima a K^+ , mayor respuesta máxima y sensibilidad a noradrenalina y a fenilefrina, y una mayor respuesta de relajación a nitroprusiato de Na^+ , que es un dador de NO. De esta forma, una respuesta aumentada a NO podría contrarrestar una mayor respuesta contráctil, inducida por la hipoxemia crónica y podría explicar la atenuación en la respuesta vasoconstrictora del territorio femoral, observada en nuestros fetos de TA, tanto en el período basal como durante la hipoxemia aguda sobreagregada.

8.4) Flujos sanguíneos, resistencia vascular y aporte de oxígeno a órganos fetales

8.4.1) Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno cerebral, cardíaco y adrenal

Durante un episodio de hipoxemia aguda, el feto ovino de último tercio de gestación, presenta una redistribución de flujos sanguíneos, que favorece la

circulación hacia el cerebro, corazón y glándulas adrenales (Cohn *et al.*, 1974), acompañado de una caída en la resistencia vascular cerebral, cardíaca y adrenal (Pérez, *et. al.*, 1989). Esta descripción coincide con el aumento del flujo sanguíneo cerebral, cardíaco y adrenal, la caída de la resistencia vascular cerebral y adrenal, y con la mantención del aporte de O₂ en cerebro y corazón, observados en los fetos de TB y de TA durante hipoxemia aguda. El incremento en el flujo sanguíneo y la caída en la resistencia vascular cerebral, cardíaco y adrenal, fueron atribuidos al efecto vasodilatador del NO, que regula el flujo sanguíneo y la resistencia vascular carotídea y cerebral (Green, *et. al.*, 1996), y media el incremento del flujo sanguíneo hacia cerebro y corazón, inmediatamente después de un episodio de hipoxemia aguda (Coumans *et. al.*, 2003). Además, el incremento del flujo sanguíneo cerebral, cardíaco y adrenal, en ambos grupos durante hipoxemia aguda, compensó la caída del Cont O₂ y mantuvo el aporte de O₂ cerebral, cardíaco y adrenal en ambos grupos. Durante la recuperación, el flujo sanguíneo adrenal se mantuvo aumentado con respecto a su valor basal en TB, lo que podría deberse a cambios en la sensibilidad de sus receptores a agentes vasoactivos circulantes o a la mantención de altos niveles plasmáticos de estos.

El feto ovino expuesto a hipoxemia crónica de altura (3820 m.s.n.m.), durante 105 días a partir del día 30 de gestación, presenta una disminución significativa del gasto cardíaco ventricular combinado fetal, mantención del flujo sanguíneo cerebral y cardíaco en niveles similares a los controles, y una disminución significativa del flujo sanguíneo hacia la carcaza, en comparación con los fetos de TB (Kamitomo, *et. al.*, 1993). Esta descripción es consistente, con la mantención del flujo sanguíneo y resistencia vascular cerebral y cardíaca observados en TA, durante el período basal y de recuperación. Además, Kamitomo, *et. al.* (1993), describieron en el feto ovino sometido a hipoxemia aguda sobreagregada (P_aO₂ fetal ≈ 11 mmHg), a la hipoxemia crónica de

altura, una reserva en la redistribución de los flujos sanguíneos, que cursa con un aumento adicional del flujo sanguíneo hacia cerebro, corazón y adrenales, y mantención en el aporte de O₂ hacia cerebro y corazón. Esta observación es coherente con el aumento del flujo sanguíneo cerebral, cardíaco y adrenal, la caída en la resistencia vascular cerebral, cardíaca y adrenal, y con la mantención del aporte de O₂ cerebral, cardíaco y adrenal, que observamos en nuestros fetos de TA durante hipoxemia aguda sobreagregada. Por su parte, la caída observada en el aporte de O₂ adrenal, durante la recuperación en TA, se debió a un leve aumento de la resistencia vascular adrenal, durante ese período.

Hoy en día se sabe que la hipoxemia crónica de altura afecta la musculatura lisa vascular coronaria, resultando en una reactividad alterada a sustancias vasoactivas circulantes, que contribuyen al aumento en la perfusión del corazón en el feto ovino (Thompson, 2003). Además, la hipoxemia crónica de altura, disminuye significativamente la respuesta máxima contráctil a KCl, en segmentos de arteria circunfleja izquierda (59 %), en la arteria descendente anterior izquierda (57 %) y en la coronaria derecha (47 %), y el bloqueo de la NOS aumentó la respuesta contráctil a tromboxano A (2), en dichas arterias en el feto ovino (García, *et. al.*, 2000b). Estos antecedentes, indican que la hipoxemia crónica de altura disminuye la capacidad máxima contráctil y atenúa el efecto de vasoconstrictores, como el tromboxano A (2) por acción del NO (García, *et. al.*, 2000b). Estos hechos podrían explicar en gran parte, el aumento del flujo sanguíneo cardíaco y la caída de la resistencia vascular cardíaca, observados durante la hipoxemia en los fetos de TA.

Por otra parte, se han estudiado las arterias cerebrales medias, basilares posteriores y carótidas comunes, de fetos ovinos sometidos a hipoxemia crónica de altura. Donde se observó que la hipoxemia crónica, disminuyó la

tensión máxima de las arterias en respuesta a KCL, a una mezcla de serotonina e histamina y disminuyó la respuesta de relajación a una dador de NO, lo que indica que la hipoxemia crónica deprime tanto la musculatura vascular lisa como la función endotelial en el feto ovino (Longo, *et. al.*, 1993). Otro estudio demostró que la hipoxemia crónica de altura, no afecta los niveles de Ca^{2+} intracelular, en las células del músculo liso vascular de vasos sanguíneos cerebrales en el feto ovino (Long, *et. al.*, 2002), por lo que la menor fuerza contráctil frente a KCL podría deberse a una disminución en la sensibilidad al Ca^{2+} inducida por la hipoxemia crónica (Gilbert, *et. al.*, 2003). Además, las arterias cerebrales medias de fetos ovinos sometidos a hipoxemia crónica, presentaron una sensibilidad significativamente disminuida en los canales de K^+ dependientes de ATP y Ca^{2+} , en comparación con los fetos de TB (Long, *et. al.*, 2002). Estos canales, determinan en gran medida, la respuesta eléctrica de la musculatura vascular lisa y la mantención del tono miogénico a las concentraciones de Ca^{2+} . De esta forma, la disminución tanto en la respuesta vasoconstrictora, como vasodilatadora, mediante los mecanismos previamente descritos, podrían explicar la respuesta observada en el flujo sanguíneo cerebral observada en los fetos de TA.

8.4.2) Flujo sanguíneo, resistencia vascular y aporte de oxígeno renal y umbilical

La redistribución del gasto cardiaco ventricular combinado fetal, durante hipoxemia aguda, con aumento del flujo sanguíneo hacia cerebro, corazón y adrenales, involucra una disminución del flujo sanguíneo hacia el resto de los órganos fetales (Cohn *et al.*, 1974). Esta redistribución es consistente con el aumento de la resistencia vascular renal y la disminución del aporte de O_2 , observados durante la hipoxemia en los fetos de TB. El aumento de la resistencia vascular renal, tiene un origen reflejo y se mantiene gracias a la

liberación de hormonas vasoconstrictoras (Green *et. al.*, 1997) y explica la caída en el aporte O₂ durante la hipoxemia aguda. Por su parte, en los fetos de TA, no se observaron cambios tanto en el flujo sanguíneo como en la resistencia vascular renal durante la hipoxemia aguda. Este hecho sugiere la existencia de un efecto directo de la altura sobre el endotelio vascular renal, el que podría involucrar un aumento del tono vasodilatador, sin embargo, el mecanismo de la respuesta observada lo desconocemos. Por otra parte, la caída en el aporte de O₂ renal observada en TA durante la hipoxemia aguda, la atribuimos a la caída del Cont O₂ en la sangre fetal inducido por la hipoxemia aguda.

Se ha descrito, que la hipoxemia fetal crónica, inducida mediante embolización crónica de la placenta durante 10 días, provoca un aumento progresivo de la resistencia vascular umbilical (Gagnon *et. al.*, 1994). Además, en hipoxemia crónica de altura, la respuesta contráctil a noradrenalina de los vasos sanguíneos umbilicales disminuye, debido a cambios tanto en la densidad como en la afinidad de los receptores α_1 , inducidos por los altos niveles plasmáticos de esta hormona en la altitud (Zhang *et. al.*, 1998). A su vez, se ha visto que la AVP produce vasoconstricción umbilical en hipoxemia aguda, en fetos ovinos de entre 0,79 y 0,90 de gestación (Pérez, *et. al.*, 1989). De esta forma, los altos niveles de catecolaminas y posiblemente de AVP circulantes, inducidos por la hipoxemia crónica, explicarían el menor flujo sanguíneo, la mayor resistencia vascular y la caída en el aporte de O₂ umbilicales, observados en TA tanto durante la hipoxemia aguda como durante la recuperación. Por su parte, la caída en el aporte de O₂ umbilical, observada en ambos grupos de fetos durante la hipoxemia aguda, la atribuimos a la caída del Cont O₂ inducido por la hipoxemia aguda, ya que no se observaron cambios en los flujos sanguíneos con respecto a sus basales. Además, el flujo sanguíneo umbilical levemente menor y la mayor resistencia vascular umbilical relativa, observados en condiciones basales en los fetos de TA, podrían ser

atribuidos a la hipoxemia crónica de altura, ya que esta ocasiona un menor flujo sanguíneo umbilical en fetos humanos expuestos a hipoxemia crónica, con restricción de crecimiento intrauterino (Block, *et al.*, 1984). A su vez, la hipoxia crónica altera el crecimiento de la arteria uterina durante la preñez en cobayas preñadas (White *et. al.*, 2001), provocando un menor flujo sanguíneo útero-placentario, lo que se relaciona con restricción de crecimiento intrauterino.

8.5) Variables cardiovasculares maternas

El aumento en la FC observado en las ovejas preñadas de TB durante la hipoxemia aguda, concuerda con lo descrito por la literatura, donde ha sido descrita una mantención en la presión arterial sistémica y un aumento en la FC, en ovejas adultas sometidas a hipoxemia aguda (Herrera *et. al.*, 2003). Este aumento se explica por un incremento en los niveles plasmáticos de catecolaminas circulantes, ya que se ha demostrado que la infusión de adrenalina ($0,3 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) en ovejas adultas, produce un aumento en la FC, sin alterar la presión sanguínea arterial (Jones y Robinson, 1975).

Por otra parte, Los ajustes cardiovasculares descritos para la vida en la altitud, indican un aumento en la actividad del sistema nervioso simpático, con aumento de la resistencia vascular, de la presión sanguínea arterial y de la frecuencia cardíaca (Hainsworth y Drinkhill, 2007), lo que contrasta con la menor PAM observada durante el período basal en nuestras ovejas de altura. Este hecho podría indicar que, cuando las ovejas son mantenidas durante mayor tiempo en la altura, como en el caso de el presente trabajo, el tono simpático aumentado descrito por la literatura, podría ser contrarrestado por un tono vasodilatador aumentado, posiblemente debido a una respuesta aumentada a NO, como ha sido descrito en ovinos recién nacidos (Herrera, *et. al.*, 2007). De esta forma y dada la similitud de las respuestas, los cambios

vasculares descritos en las ovejas preñadas mantenidas en la altura durante varias generaciones, podrían ser similares a los descritos anteriormente para los fetos ovinos, los que podrían involucrar cambios en la sensibilidad al Ca^{2+} intracelular, o a cambios en la sensibilidad de los canales de K^+ dependientes de ATP.

9. CONCLUSIÓN

En el presente estudio, se observó que el feto ovino expuesto a hipoxemia crónica de altura durante toda su gestación, no aumentó su presión arterial media, frecuencia cardíaca ni su flujo sanguíneo carotídeo, presentó una respuesta vasoconstrictora atenuada en la circulación femoral, renal y umbilical, una mantención en la respuesta vasodilatadora cardíaca y adrenal, y una respuesta vasodilatadora cerebral levemente atenuada, en comparación con los fetos de TB durante un episodio de hipoxemia aguda sobreagregada, por lo que se aceptó la hipótesis propuesta.

Por otra parte, el cerebro, corazón y adrenales en TA, mantuvieron la capacidad de aumentar el flujo sanguíneo frente a la hipoxemia sobreagregada, lo que indica una mantención, aunque atenuada en ciertos territorios, en la capacidad de redistribuir el gasto cardiaco ventricular combinado. Además, se concluyó que la hipoxemia crónica de altura, afecta profundamente la respuesta de cada uno de los distintos territorios estudiados. De esta forma, la menor respuesta vasodilatadora cerebral observada, sugirió la existencia de mecanismos celulares específicos, para contrarrestar el déficit de O₂, mientras que, en el corazón y las adrenales, la respuesta observada garantiza la óptima perfusión de éstos cuando la hipoxemia se mantiene durante largo tiempo. En cuanto a la circulación femoral y renal, que representan a la circulación periférica, la menor respuesta vasoconstrictora, se atribuyó a un aumento del tono vasodilatador, mediado por NO, el cual contrarresta el alto tono vasoconstrictor descrito en la altitud.

De esta forma, los fetos ovinos mantenidos en la altitud durante toda su gestación y provenientes de rebaños mantenidos en la altitud durante varias

generaciones, presentan una respuesta cardiovascular distinta a la respuesta de fetos ovinos expuestos parcialmente a esta condición. Además, la respuesta observada sugirió la existencia de algún grado de adaptación a esta condición, la que podría involucrar cambios en la sensibilidad de receptores, en los factores de acción local, como a nivel de canales de Ca^{+2} y de K^{+} , los que determinar en gran medida la respuesta cardiovascular.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. **BARKER D.J.** 2007. The origins of the developmental origins theory. *J. Intern. Med.* 261 (5): 412 – 417.
2. **BLOCK B.S.; PARER J.T.; COURT D.J.; LLANOS A.J.** 1984. Continuous measurement of oxygen consumption in fetal sheep. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 150: 406 - 408.
3. **BLOCK B.S.; LLANOS A.J.; CREASY R.K.** 1984. Response of the grow-retarded fetus to acute hypoxemia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 148: 878 – 4. 4.
4. **BOCKING A.D.; GAGNON R.; WHITE S.E.; HOMAN J.; MILNE K.M.; RICHARDSON B.D.** 1988. Circulatory responses to prolonged hypoxemia in fetal sheep. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 159: 1414 - 1424.
5. **BODDY K.; DAWES G.S.; FISHER R.** 1974. Fetal respiratory movements, electrocortical and cardiovascular responses to hypoxemia and hypercapnia in sheep. *J. Physiol.* 243: 599 - 618.
6. **BRACE R. A.** 1986. Fetal blood volume responses to acute fetal hypoxia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 155: 889 - 893.
7. **BROWNE V. A.; STIFFEL V. M.; PEARCE W.J.; LONGO L.D.; GILBERT R.D.** 1997. Activator calcium and miocardial contractility in fetal sheep exposed to long-term high-altitude hypoxia. *Am. J. Physiol.* 272: 1196 - 1204.

8. **CARVAJAL J.A.; GERMAIN A.M.; HUIDOBRO-TORO J.P.;WEINER C.P.** 2000. Molecular mechanism of cGMP-mediated smooth muscle relaxation. *J. Cel. Physiol.* 184: 409 - 420.
9. **COHN H.E.; SACKS E.J.; HEYMANN M.A.; RUDOLPH A.M.** 1974. Cardiovascular response to hypoxemia and acidemia in fetal lambs. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 120: 817 - 824.
10. **COUMANS A.B.C.;GARNIER Y.; SUPCUM S.; JENSEN A.; HASAART T.H.M.; BERGER R.** 2003. The role of nitric oxide on fetal cardiovascular control during normoxia and acute hypoxia in 0.75 gestation sheep. *J. Soc. Gynecol. Invest.* 10: 275 - 282.
11. **DAWES G.S.; LEWIS B.V.; MILLIGAN J.E.; ROACH M.R.; TALNER N.S.** 1968. Vasomotor responses in the hind limbs of foetal and new-born lambs to asphyxia and aortic chemorreceptor stimulation. *J. Physiol.* 195: 55 - 81.
12. **EDELSTONE D.I.** 1984. Fetal compensatory responses to reduced oxygen delivery. *Semin. Perinatol.* 8: 184 - 191.
13. **ESPINOZA M.I.; PARER J.T.** 1991. Mechanisms of asphyxial brain damage, and possible pharmacologic interventions, in the fetus. *Am. J. Obstet. Gyencol.* 164: 1582 - 1589.
14. **FLETCHER A.J.W.; EDWARDS C.M.B.; GARDNER D.S.; FOWDEN A.L.; GIUSSANI D.A.** 2000. Neuropeptide γ in the sheep fetus: effects of acute hypoxemia and dexamethasone during late gestation. *Endocrinology.* 141: 3976 - 3982.

15. **GAGNON R.; CHALLIS J.; JOHNSON L.; FRAHER L.** 1994. Fetal endocrine responses to chronic placental embolization in the late-gestation ovine fetus. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 170: 929 - 938.
16. **GALIÉ N.; MANES A.; BRANZI A.** 2004. The endothelin system in pulmonary arterial hypertension. *Cardiovasc. Res.* 61: 227 – 237.
17. **GARCIA F.C.; STIFFEL V.M.; GILBERT R.D.** 2000. Effects of long-term high-altitude hypoxia on isolated fetal ovine coronary arteries. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 7: 211 - 217.
18. **GARDNER D.S.; FLETCHER J.W.; FOWDEN A.L.; GIUSSANI D.A.** 2001. Plasma adrenocorticotropin and cortisol concentrations during acute hypoxemia after a reversible period of adverse intrauterine conditions in the ovine fetus during late gestation. *Endocrinology* 142: 589 - 598.
19. **GILBERT R.D.; PEARCE W.J.; LONGO L.D.** 2003. Fetal cardiac and cerebrovascular acclimatization responses to high altitude, long-term hypoxia. *High Alt. Med. Biol.* 4: 203 - 213.
20. **GIUSSANI D.A.; PHILLIPS P.S.; ANSTEE S.; BARKER D.J.** 2001. Effects of altitude versus economic status on birth weight and body shape at birth. *Pediatr. Res.* 49: 490 - 494.
21. **GIUSSANI D.A.; SPENCER J.A.; MOORE P.J.; BENNET L.; HANSON M.A.** 1993. Afferent and efferent components of the cardiovascular reflex response to acute hypoxia in term fetal sheep. *J. Physiol.* Feb; 461: 431 - 449.

- 22. GIUSSANI D. A.; SPENCER J. A. D.; HANSON M.A.** 1994. Fetal cardiovascular reflex responses to hypoxemia. *Fetal and Maternal Med. Rev.* 6: 17 - 37.
- 23. GLANTZ S.A.; SLINKER B.K.** 2001. *Primer of Applied Regression & Analysis of Variance*, 2nd edn., ed. Mc Graw-Hill, INC Medical Publishing Division, New York USA, p. 418 - 507.
- 24. GREEN L.R.; BENNET L.; HANSON M.A.** 1996. The role of nitric oxide synthesis in cardiovascular responses to acute hypoxia in the late gestation sheep fetus. *J. Physiol.* 15: 271 - 277.
- 25. GREEN L.R.; BENNET L.; ROBSON S.; HANSON M.A.** 1997. The role of carotid chemoreceptors in the effects of hypoxia on renal blood flow in the late gestation sheep fetus. *Exp. Physiol.* 82: 183 - 192.
- 26. GREEN L.R.; McGARRIGLE H.H.; BENNET L.; HANSON M.A.** 1998. The role of endothelin-A receptors in cardiovascular responses to acute hypoxaemia in the late gestation sheep fetus. *J. Physiol.* 15: 297 - 304.
- 27. HAINSWORTH R.; DRINKHILL M.J.** 2007. Cardiovascular adjustments for life at high altitude. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 158: 204 – 211.
- 28. HANSON M.A.** 1997. Do we understand the control of fetal circulation? *Eur. J. Obstet. Gynecol. & Reprod. Biol.* 75: 55 - 61.
- 29. HE H.; VENEMA V.J.; GU X.; VENEMA R.C.; MARRERO M.B.; CALDWELL R.B.** 1999. Vascular endothelial growth factor signals

endothelial cell production of nitric oxide and prostacyclin through Flk-1/KDR activation of c-Src. *J. Biol. Chem.* 274: 25130 – 25135.

- 30. HERRERA E.A.; RIQUELME R.A.; SANHUEZA E.M.; PULGAR V.M.; REYES V.R.; EBENSBERGER G.; LLANOS A.J.** 2003. Respuesta cardiopulmonar a la hipoxemia en animales adultos de altura y de tierras bajas: llama vs. oveja. XVIII Reunión anual Sociedad Chilena de Cs. Fisiológicas, Villa Alemana.
- 31. HERRERA E.A.; PULGAR V.M. RIQUELME R.A.; SANHUEZA E.M.; REYES R.V.; EBENSBERGER G.; PARER J.T.; VALDÉZ E.A.; GIUSSANI D.A.; BLANCO C.E.; HANSON M.A.; LLANOS A.J.** 2007. High-altitude chronic hypoxia during gestation and after birth modifies cardiovascular responses in newborn sheep. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 292: 2234 - 2240.
- 32. HERRERA E.A.; REYES R.V.; GIUSSANI D.A.; RIQUELME R.A.; SANHUEZA E.M.; EBENSBERGER G.; CASANELLO P.; MENDEZ N.; EBENSBERGER R.; SEPÚLVEDA-KATTAN E.; PULGAR V.M.; CABELLO G.; BLANCO C.E.; HANSON M.A.; PARER J.T.; LLANOS A.J.** 2008. Carbon monoxide: a novel pulmonary artery vasodilator in neonatal llamas of the Andean altiplano. *Cardiovasc. Res.* 77: 197 – 201.
- 33. HEYMANN M.A.; PAYNE B.D.; HOFFMAN J.I.E.; RUDOLPH A.M.** 1977. Blood flow measurements with radionuclide-labeled particles. *Prog Cardio. Dis.* 20: 55 - 79.

- 34. HOMMES F.A.; DROST Y.M.; GERAETS W.X.M.; REIJENGA M.A.A.** 1974. The energy requirement for growth: an application of Atkinson's metabolic price system. *Pediatr. Res.* 9: 51.
- 35. IMAMURA T.; UMEZAKI H.; KAUSHAL K.M.; DUCSAY C.A.** 2004. Long-term hypoxia alters endocrine and physiologic responses to umbilical cord occlusion in the ovine fetus. *J. Soc. Gynecol. Invest.* 11: 131 – 140.
- 36. ITSKOVITZ J.; LA GAMMA E.F.; RUDOLPH A.M.** 1983. The effect of reducing umbilical blood flow on fetal oxygenation. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 145: 813 - 818.
- 37. IWAMOTO H.S.; RUDOLPH A.M.** 1979. Effects of endogenous angiotensin II on the fetal circulation. *J. Dev. Physiol.* 1: 283 - 293.
- 38. IWAMOTO H.S.; RUDOLPH A.M.** 1981. Role of renin-angiotensin system in response to hemorrhage in fetal sheep. *Am. J. Physiol.* 240: 848 - 854.
- 39. IWAMOTO H.S.; RUDOLPH A.M.; MIRKIN B.L.; KEIL L.C.** 1983. Circulatory and humoral responses of sympathectomized fetal sheep to hypoxemia. *Am. J. Physiol.* 245: 767 - 772.
- 40. JACOBS R.; ROBINSON J.S.; OWENS J.A.; FALCONER J.; WEBSTER M.E.** 1988. The effect of prolonged hypobaric hypoxia on growth of fetal sheep. *J. Dev. Physiol.* 10: 97 - 112.

41. **JENSEN G.M.; MOORE L.G.** 1997. The effect of high altitude and other risk factors on birthweight: independent or interactive effects?. *Am. J. Public Health.* 87: 1003 - 1007.
42. **JONES C.T.; ROBINSON R.O.** 1975. Plasma catecholamines in foetal and adult sheep. *J. Physiol.* 248: 15 - 33.
43. **KAMITOMO M.; ALONSO J.G.; OKAI T.; LONGO L.D.; GILBERT R.D.** 1993. Effects of long-term, high altitude hypoxemia on ovine fetal cardiac output and blood flow distribution. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 169: 701 - 707.
44. **KAMITOMO M.; LONGO L. D.; GILBERT R. D.** 1994. Cardiac function in fetal sheep during two weeks of hypoxemia. *Am. J. Physiol.* 266: 1778 - 1785.
45. **KEYES L.E.; ARMAZA J.F.; NIERMEYER S.; VARGAS E.; YOUNG D.A.; MOORE L.G.** 2003. Intrauterine growth restriction, preeclampsia, and intrauterine mortality at high altitude in bolivia. *Pediatr. Res.* 54: 20 - 25.
46. **KITANAKA T.; ALONSO J.G.; GILBERT R.D.; SIU B.L.; CLEMANS G.K.; LONGO L.D.** 1989. Fetal responses to long-term hypoxia in sheep. *Am. J. Physiol.* 255: 1348 - 1354.
47. **KRAMPL E.; LEES C.; BLAND J.M.; ESPINOZA DORADO J.; MOSCOSO G.; CAMPBELL S.** 2000. Fetal biometry at 4300 m compared to sea level in Peru. *Ultrasound. Obstet. Gynecol.* 16: 9-18.

- 48. LEWIS A.B.; DONOVAN M.; PLATZKER A.C.** 1980. Cardiovascular responses to autonomic blockade in hypoxemic fetal lambs. *Biol. Neonate.* 37: 233 - 242.
- 49. LONG W.; ZAHNG L.; LONGO L.D.** 2002. Fetal and adult cerebral artery KATP- and Kca- channel responses to long-term hypoxia. *J. Appl. Physiol.* 92: 1692 - 1701.
- 50. LONGO L.D.; HILL E. P.; POWER G.G.** 1972. Theoretical analysis of factors affecting placental oxygen transfer. *Am. J. Physiol.* 222: 730 -739.
- 51. LONGO L.D.; HULL A.D.; LONG D.; PEARCE W.J.** 1993. Cerebrovascular adaptations to high altitude hypoxemia in fetal and adult sheep. *Am. J. Physiol.* 264: 65 - 72.
- 52. LONGO L.D.; PEARCE W.J.** 1998. High altitude, hypoxic-induced modulation of noradrenergic-mediated responses in fetal and adult cerebral arteries. *Comp. Biochem. Physiol.* 119: 683 - 694.
- 53. LOPEZ-BARNEO J.; ORTEGA-SAENZ P.; PIRUAT J.I.; GARCIA-FERNANDEZ M.** 2006. Oxygen-sensing by ion channels and mitochondrial function in carotid body glomus cells. *Novartis found symp.* 272: 54 – 64.
- 54. LLANOS A.J.; GREEN J.R.; CREASY R.K.; RUDOLPH A.M.** 1980. Increased heart rate response to parasympathetic and beta adrenergic blockade in growth-retarded fetal lambs. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 136: 808 - 813.

- 55. LLANOS A.J.** 1992. Intercambio gaseoso materno fetal y respuesta fetal a la hipoxemia. *Obstetricia*. Perez 2^{da} ed. Publicaciones técnicas mediterráneo Ltda., Stgo, Chile: Cap. 8: 110 - 115.
- 56. LLANOS A.J.; RIQUELME R.A.** 1997. Asfixia perinatal y su repercusión sistémica. *Pediatría*. J. Meneghello, E. Fanta, E. Paris. T.F. Puga Editors. Editorial médica panamericana S.A.C.Y.F., Buenos Aires, Argentina. 486 - 489.
- 57. LLANOS A.J.; RIQUELME R.A.; SANHUEZA E.M.; HANSON M.A.; BLANCO C.E.; PARER J.T.; HERRERA E.A.; PULGAR V.M.; REYES R.V.; CABELLO G.; GIUSSANI D.A.** 2003. The fetal llama versus the fetal sheep: different strategies to withstand hypoxia. *High Alt. Med. Biol.* 4(2): 193 - 202.
- 58. MESCHIA G.** 1978. Evolution of thinking in fetal respiratory physiology. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 132: 806 - 813.
- 59. MOORE L.G.** 2001. Human genetic adaptation to high altitude. *High. Alt. Med. Biol.* 2: 257 - 279.
- 60. MOORE L.G.** 2003. Fetal growth restriction and maternal oxygen transport during high altitude pregnancy. *High. Alt. Med. Biol.* 4: 141 - 156.
- 61. MORRIS D.P.; LEI B.; WU Y.X.; MICHELOTTI G.A.; SCHWINN D.A.** 2008. The alpha 1a- adrenergic receptor occupies membrane rafts with its G protein effectors but internalizes via clathrin-coated pits. 2008. *J. Biol. Chem.* 283: 2973 – 2985.

- 62. NACHAR R.A.; PASTENE C.M.; HERRERA E.A.; RIQUELME R.A.; SANHUEZA E.M.; TRONCOSO S.; LLANOS A.J.** 2001. Low-dose inhaled carbon monoxide reduces pulmonary vascular resistance during acute hypoxemia in adult sheep. *High. Alt. Med. Biol.* 2: 377 - 385.
- 63. NATALE R.; CLEWLOW F.; DAWES G.S.** 1981. Measurement of fetal forelimb movements in the lamb in utero. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 140: 545-551.
- 64. PARER J.T.** 1980. The effect of acute maternal hypoxia on fetal oxygenation and the umbilical circulation in the sheep. *Eur. J. Obstet. Gynaecol. Reprod. Biol.* 10: 125 - 136.
- 65. PARRAGUEZ V.H.; ATLAGICH M.A.; DIAZ R.; BRUZZONE M.E.; BEHN C.; RAGGI L.A.** 2004. Lambs growth at high altitude: comparison between animals with different time of adaptation to hypoxic environment. *Agro-Ciencia*: 20: 39 - 45.
- 66. PARRAGUEZ V.H.; ATLAGICH M.A.; DIAZ R.; BRUZZONE M.E.; BEHN C.; RAGGI L.A.** 2005. Effect of hypobaric hypoxia on lamb intrauterine growth: comparison between high- and low- altitude native ewes. *Reprod. Fertil. Dev.* 17: 497 - 505.
- 67. PEEBLES D.M.** 2004. Fetal consequences of chronic substrate deprivation. *Semin. Fetal Neonatal Med.* 9: 379 - 386.
- 68. PEREYRA J.; TOMIMATSU T; HATRAN D.P.; MCGILL L.L.; LONGO L.D.** 2007. Cerebral blood flow and oxygenation in ovine fetus: responses

to superimposed hypoxia at both low and high altitude. *J. Physiol.* 578: 359 - 370.

69. PÉREZ R.; ESPINOZA M.; RIQUELME R.; PARER JT.; LLANOS AJ. 1989. Arginine-Vasopressin mediates some of cardiovascular responses to hypoxemia in fetal sheep. *Am. J. Physiol.* 156: 1011 - 1018.

70. PRINZEN F.W.; BASSINGTHWAIGHTHE J.B. 2000. Blood flows distributions by microsphere deposition methods. *Cardiov. Research* 45: 13 - 21.

71. RICHARDSON B.S.; BOCKING A.D. 1998. Metabolic and circulatory adaptations to chronic hypoxia in the fetus. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 119 A: 717 - 723.

72. RIZZO G.; CAPPONI A.; CAVICCHIONI O.; VENDOLA M.; ARDUINI D. 2008. Low cardiac output to the placenta: an early hemodynamic adaptative mechanism in intrauterine grow restriction. *Ultrasound. Obstet. Gynecol.* 32: 155 – 159.

73. RYTER S.W.; ALAM J.; CHOI A.M. 2006. Heme oxygenase-1 /carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications. *Physiol. Rev.* 86: 583 – 650.

74. ROBINSON J.S.; JONES C.T.; KINGSTON E.J. 1983. Studies on experimental grown retardation in sheep. The effects of maternal hypoxaemia. *J. Dev. Physiol.* 5: 89 - 100.

- 75. ROCKWELL L.C.; KEYES L.E.; MOORE L.G.** 2000. Chronic hypoxia diminishes pregnancy-associated DNA synthesis in guinea pig uteroplacental arteries. *Placenta*. 21: 313 - 319.
- 76. RURAK D.W.; GRUBER N.C.** 1983. Increased oxygen consumption associated with breathing activity in fetal lambs. *J. Appl. Physiol.* 54: 701 - 707.
- 77. SANHUEZA E.M.; JOHANSEN-BIBBY A.A.; FLETCHER A.J.; RIQUELME R.A.; DANIELS A.J.; SERÓN-FERRE M.; GAETE C.R.; CARRASCO J.E.; LLANOS A.J.; GIUSSANI D.A.** 2003. The role of neuropeptide γ in the ovine fetal cardiovascular response to reduced oxygenation. *J. Physiol.* 546: 891 - 901.
- 78. SANHUEZA E.M.; RIQUELME R.A.; HERRERA E.A.; GIUSSANI D.A.; BLANCO C.E.; HANSON M.A.; LLANOS A.J.** 2005. Vasodilator tone in the llama fetus: the role of nitric oxide during normoxemia and hypoxemia. *Am. J. Physiol.* 289: 776 - 783
- 79. SELLERS M.M.; STALLONE J.N.** 2008. Sympathy for the devil: the role of thromboxane in the regulation of vascular tone and blood pressure. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 294: 1978 – 1986.
- 80. TENG G.Q.; WILLIAMS J.; ZHANG L.; PURDY R.; PEARCE W.J.** 1998. Effects of maturation, artery size, and chronic hypoxia on 5-HT receptor type in ovine cranial arteries. *Am. J. Physiol. Regul. Integrative Comp. Physiol.* 275: 742 - 753

- 81. THOMPSON L.P.** 2003. Effects of chronic hypoxia on fetal coronary responses. *High Alt. Med. Biol.* 4: 215 - 224.
- 82. UENO N.; ZHAO Y.; ZHANG L.; LONGO L.D.** 1997. High altitude-induced changes in α_1 -adrenergic receptors and Ins (1, 4, 5) P3 responses in cerebral arteries. *Am. J. Physiol.* 272: 669 - 674.
- 83. UNGER C.; WEISS J.K.; MCCULLOUGH R.E.; KEEFER S.; MOORE L.G.** 1988. Altitude, low birth weight and infant mortality in Colorado. *J. Am. Med. Assoc.* 259: 3427 – 3432.
- 84. WEST J.B.** 2000. Fisiología respiratoria. Sexta edición. Editorial médica panamericana S.A. Buenos Aires Argentina. Cap. 3: 21 – 29.,
- 85. WHITE M.M.; MOORE L.G. MOUSER R.; LE CRAS T.D.** 2001. Effect of pregnancy and chronic hypoxia on endothelial nitric oxide synthase (NOSIII) protein expression in guinea pig uterine and thoracic arteries. *J. Soc. Gynecol. Invest.* 8: 187 A.
- 86. WILLIAMS C.E.; GUNN A.J.; MALLARD C.; GLUCKMAN P.D.** 1992. Outcome after ischemia in the developing sheep brain: an electroencephalographic and histological study. *Ann. Neurol.* 31: 14 - 21.
- 87. WOOD C.E., CHEUNG C.Y., BRACE R.A.** 1987. Fetal heart rate, arterial pressure, and blood volume responses to cortisol infusion. *Am. J. Physiol.* 253: 904 - 909.
- 88. WOOD C.E.; CHEN H.G.** 1989. Acidemia stimulates ACTH, vasopresin and heart rate responses in fetal sheep. *Am. J. Physiol.* 257: 344 - 349.

- 89. WORTHINGTON D.; PIERCY W.N.; SMITH B.T.** 1981. Effects of reduction of placental size in sheep. *Obstet, Gynecol.* 58 (2): 215 - 221.
- 90. YAFFE H.; PARER J.T.; BLOCK B.S.; LLANOS A.J.** 1987. Cardiorespiratory responses to graded reductions of uterine blood flow in the fetal sheep fetus. *J. Dev. Physiol.* 9: 325 - 336.
- 91. YANAGISAWA M.; KURIHARA S.; KIMURA S.; GOTO K.; MASAKI T.** 1988. A novel peptide vasoconstrictor, endothelin, is produced by vascular endothelium and modulates smooth muscle Ca^{2+} channels. *J. Hypertens. Suppl.* 6: 188 - 191.
- 92. ZHANG L.; DYER D.C.** 1991. Characterization of α -adrenoceptors mediating contraction in isolated ovine umbilical vein. *Eur. J. Pharmacol.* 197: 63 - 67.
- 93. ZHANG L.; HU X.; LONGO L.D.** 1998. Effects of chronic hypoxia on adrenoceptor responses of ovine foetal umbilical vessels. *Br. J. Pharmacol.* 125: 136 - 142.
- 94. ZHOU L.; ZHAO Y.; NIJLAND R.; ZHANG L.; LONGO L.D.** 1997. Ins (1,4,5) P3 receptors in cerebral arteries: changes with development and high altitude hypoxia. *Am. J. Physiol.* 272: 1954 - 1959.