



# **UNIVERSIDAD DE CHILE**

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS**

**ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**EFEECTO DE LA HIPOXIA HIPOBÁRICA EN LAS  
CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS MATERNAS Y  
FETALES DE CORTISOL, GLUCOSA E INSULINA EN  
OVINOS ADAPTADOS Y NO ADAPTADOS A LA ALTURA.**

**RAFAEL RENÁN ASENJO FUENTEALBA.**

Memoria para optar al Título

Profesional de Médico Veterinario

Departamento de Ciencias

Biológicas Animales.

PROFESOR GUIA: Dr. Victor Hugo Parraguez.

**SANTIAGO, CHILE**

**2006**

## INDICE

	Pág.
Resumen.	1
Summary.	3
Introducción.	4
Revisión bibliográfica.	6
Objetivos.	19
Materiales y método.	20
Resultados.	27
Discusión.	32
Conclusiones.	38
Bibliografía.	39

## RESUMEN.

Se estudió el efecto de la hipoxia hipobárica sobre las concentraciones plasmáticas de cortisol, insulina y glucosa en ovejas y fetos adaptados y no adaptados a la altura.

Se utilizaron 12 ovejas preñadas, 6 originarias de la altura (3.589 m.s.n.m) que corresponden al grupo altura y las otras 6 originarias del nivel del mar, que se llevaron a la altura durante la preñez, el grupo subidos. A los 60 días de edad gestacional se instalan catéteres arteriales y venosos en todas las hembras. El mismo procedimiento se llevó a cabo en los fetos a los 120 días de gestación. Se obtuvieron muestras de sangre venosa para la medición de las concentraciones plasmáticas de cortisol, insulina y glucosa.

Los resultados mostraron que la concentración plasmática de cortisol en los fetos no presentó diferencias estadísticas entre el grupo subidos ( $40.3 \pm 41.8$  nMol/L) y el grupo altura ( $47.6 \pm 37.0$  nMol/L). En el caso de las madres solo en el lapso 0-5 días previos al parto, la concentración de cortisol del grupo subidos fue significativamente menor que la del grupo altura. En el resto del periodo estudiado no hubo diferencias, aunque se observó una tendencia a mayores valores de la variable en el grupo altura ( $90.61 \pm 57.4$  nMol/L) en comparación con el grupo subidos ( $67.1 \pm 43.1$  nMol/L).

La concentración plasmática de insulina fetal no presentó diferencias entre ambos grupos, con promedios de  $2.94 \pm 2.6$  uUI/mL para el grupo altura y de  $2.36 \pm 1.8$  uUI/mL para el grupo subidos. En el caso de las madres no se observaron diferencias significativas entre ambos grupos  $5.37 \pm 5.20$  uUI/mL y  $6.54 \pm 5.1$  uUI/mL, altura y subidos, respectivamente.

Para la glucosa, tampoco se observaron diferencias significativas entre ambos grupos, tanto en fetos (altura:  $23.7 \pm 2.9$  mg/dL; subidos:  $27.1 \pm 7.9$  mg/dL) como en madres (altura:  $47.5 \pm 11.3$  mg/dL; subidos:  $51.6 \pm 15.0$  mg/dL).

Se concluye que la exposición a la hipoxia hipobárica durante la preñez no produce diferencias evidentes en las concentraciones de cortisol, insulina y glucosa plasmática, entre ovejas adaptadas y no adaptadas a la altura, ni entre sus fetos.

## SUMMARY.

The purpose of the present study was to compare the effect of hypobaric hypoxia on the maternal and fetal plasma concentrations of cortisol, insulin and glucose during gestation at high altitude in adapted and non-adapted ewes to this environmental condition.

Twelve pregnant ewes were used. Six were high altitude native (3.589 m.s.n.m) and 6 were from the sea level which were taken to gestate at high altitude. At 60 days of gestation the ewes were implanted with chronic arterial and venous polyvinyl catheters, in a sterile surgery under general anesthesia. Fetal femoral vein and artery were also catheterized at 120 days of gestation. Maternal blood samples were drawn three times a week, while this procedure was done twice a week in their fetuses. Blood glucose was measured in each sample immediately after sample recovery. Plasma was obtained and stored at -20°C until assayed by cortisol and insulin by radioimmunoassay.

Results show no difference in fetal plasma concentration of cortisol between the groups. Maternal cortisol was lesser in non-adapted than in adapted ewes only in the interval of 0-2 days before parturition. For insulin and glucose, no differences were detected between groups, both in maternal and fetal samples.

It is concluded that long- and short-term adaptation to hypobaric hypoxia do not cause evident differences in the blood concentrations of cortisol, insulin and glucose in sheep pregnancies at high altitude.

Key words: hypoxia, hormones, sheep, fetus.

## INTRODUCCIÓN.

A medida que se sube a mayores altitudes la presión barométrica disminuye progresivamente. Debido a esa disminución, la presión parcial de oxígeno en la atmósfera se reduce, lo que trae consigo una baja en la presión parcial de oxígeno en la sangre arterial, dando lugar a lo que se conoce como “hipoxia de altura” ó “hipoxia hipobárica”, la que puede ser considerada un factor estresante y, desde ese punto de vista, generar una serie de cambios en la fisiología animal. La magnitud de la respuesta depende de la duración y severidad del factor estresante, como también del grado de desarrollo del organismo.

Un individuo en buenas condiciones de salud, se encuentra en perfecto equilibrio con su entorno, es decir, está adaptado. Al trasladarse a un ambiente distinto, específicamente a grandes elevaciones terrestres, pierde su equilibrio orgánico, iniciándose los mecanismos de adaptación fisiológicos a las nuevas condiciones (homeostasis).

El crecimiento intrauterino es un delicado proceso, en el que se establecen relaciones recíprocas entre la madre y el feto, por lo tanto, cualquier factor que pudiese alterar este proceso puede llevar a consecuencias indeseadas en el desarrollo fetal.

La glucosa es el principal nutriente energético fetal aportado por la madre a través de la placenta y, por lo tanto, esencial para un adecuado crecimiento y desarrollo durante la gestación. La transferencia de glucosa desde la madre al feto es directamente proporcional a la concentración de glucosa en la sangre materna y, por esto, cualquier factor que altere esta condición, afectará directamente el desarrollo fetal.

La insulina es una hormona producida por las células  $\beta$  del páncreas y su función es actuar sobre el metabolismo de los hidratos de carbono, proteínas y grasas, aumentando la tasa de utilización de la glucosa y favoreciendo la formación de proteínas y el almacenamiento de grasas.

A su vez, el cortisol es una hormona secretada por las glándulas suprarrenales que juega un rol muy importante durante la gestación, ya que a través de sus hormonas participa en la diferenciación y maduración de diferentes tejidos y órganos que preparan al feto para la vida extrauterina. Frente a situaciones estresantes responde modificando su patrón de secreción, permitiendo ajustar la fisiología orgánica a esta nueva situación.

El objetivo de este estudio fue comparar el efecto de la hipoxia hipobárica sobre las concentraciones plasmáticas de cortisol, insulina y glucosa, tanto fetal como materna, en ovinos de altura y ovinos del nivel del mar llevados a la altura (3.600 m.s.n.m) durante su periodo de gestación.

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

En la zona altoandina de la I Región de Tarapacá, habitan aproximadamente 1.365 familias campesinas Aymarás, dedicadas principalmente a las labores de ganadería como sustento económico, la que practican mayoritariamente por sobre los 3.500 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m), utilizando dos sistemas vegetacionales principalmente: la “estepa” y el “bofedal” andinos (González *et al.*, 1993).

El ganado mantenido por estas comunidades altoandinas está constituido por animales adaptados al ecosistema de altura. Según las últimas estimaciones, la masa de llamas, alpacas y ovinos mantenidos por estas comunidades, llegaría a aproximadamente 50.000, 35.000 y 16.500 cabezas, respectivamente (I.N.E., 1997).

Los ovinos no se consideran como propios de la región altoandina, ya que corresponden a una especie introducida. Sin embargo, han coexistido por cientos de años con los camélidos domésticos en el altiplano. Este ganado se encuentra actualmente adaptado a las condiciones de altura, semiaridez y manejo extensivo. Aún cuando los rendimientos de los ovinos de altura son bajos, estos representan una importante fuente de ingresos para la economía de la población campesina (De Carolis, 1987).

La adaptación y la aclimatación son las respuestas del individuo frente a las exigencias del medio ambiente y pueden situarse en dos niveles de adaptación: a nivel genético y a nivel fisiológico. La primera corresponde a la adaptación en sentido estricto, fruto de una selección natural irreversible. Las características genéticas de estas poblaciones, les permiten la supervivencia en la altura y persisten aunque el individuo cambie a un ambiente de menor

altura. La segunda, por su parte, es lo que se conoce como aclimatación, e involucra a distintos sistemas que contribuyen a la homeostasis (termorregulación, eritropoyesis, regulación de la ventilación, entre otras.), permitiendo al individuo hacer frente a ambientes excepcionales (Kayser, 1994).

La baja eficiencia reproductiva y productiva de los ovinos criollos de altura se puede atribuir a los efectos propios de un ambiente hipobárico e hipóxico, tal como se ha descrito para poblaciones humanas residentes en grandes alturas (Vitzthum *et al.*, 2000).

Las ovejas nacidas y criadas en la altura, que desarrollan su preñez en estas condiciones, presentan un peso al nacimiento de sus crías de alrededor de un 26-29% menor que las ovejas que desarrollan su preñez al nivel del mar (Parraguez *et al.*, 2004). Sin embargo, aunque no se observan diferencias significativas en los pesos de las crías de madres adaptadas y no adaptadas a la altura que gestan en la altura, en términos absolutos las crías de madres nativas de la altura presentan 200 g. más de peso en comparación a las crías de ovejas nativas del nivel del mar, demostrando que la exposición por varias generaciones a un ambiente hipobárico e hipóxico permite un grado de compensación sobre el peso al nacimiento (Parraguez *et al.*, 2005). Adicionalmente, la duración del periodo gestacional también se ve influenciada por la condición del ambiente hipobárico e hipóxico, demostrándose que ovejas adaptadas a la altura presentan, en promedio, alrededor de un 6.8% de aumento en el largo de la gestación en comparación a ovejas no adaptadas a la altura o aquellas que desarrollan su gestación a nivel del mar (Parraguez *et al.*, 2005).

El feto posee una notable habilidad para responder al estrés fisiológico. Un elemento clave en este proceso de adaptación es el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA). Las glándulas adrenales fetales son muy importantes desde varios puntos de vista. Por ejemplo, el rol del cortisol en la maduración de órganos fetales tales como páncreas y pulmón, entre otros, y su función en el inicio del trabajo de parto (Ducsay, 1998). Además, el eje HHA tiene una gran repuesta al estrés, lo que resulta en la salida a circulación de glucocorticoides, siendo uno de los mecanismos centrales de adaptación a las condiciones adversas en los mamíferos. La elevación en los niveles de corticosteroides trae consigo efectos catabólicos, los que incluyen incremento de la lipólisis, glicogenolisis y del catabolismo proteico, resultando en un aumento en las concentraciones de glucosa circulantes en la sangre, favoreciendo la adaptación a las condiciones estresantes (Munck *et al.*, 1984).

Los valores de cortisol plasmático en fetos que cursan su gestación a nivel del mar varían dependiendo de la edad gestacional. Según Parraguez *et al.* (1989), los valores promedio de cortisol plasmático en fetos de oveja son de  $2.43 \pm 0.22$  nMol/L para el periodo entre los 124 y 130 días de gestación, de  $5.07 \pm 0.37$  nMol/L para el periodo entre los 131 y 134 días de gestación y de  $6.71 \pm 0.45$  nMol/L para el periodo de 135 a 140 días de gestación.

En el feto de oveja se observa un incremento progresivo en las concentraciones de ACTH y cortisol en circulación durante los últimos 15-20 días de gestación. Sin embargo, las glándulas adrenales fetales de animales a los 50-60 días de gestación (duración de la gestación 145-150 días) responden a la estimulación por ACTH, incrementando la liberación de cortisol. Esta respuesta se pierde en la mitad de la gestación y vuelve a aparecer cerca del parto (Challis *et al.*, 2001). Histológicamente, la glándula adrenal fetal a los 60 días de gestación se caracteriza por poseer solo un tipo de células alineadas en

forma concéntrica. Durante el periodo de los 90 a 120 días de gestación se comienza a organizar la zona glomerular y es durante este periodo en el cual la glándula no responde a la estimulación de la ACTH. Después de los 120 días de gestación se pueden apreciar un número significativo de células maduras en la glándula (Webb, 1980).

En fetos ovinos adrenalectomizados bilateralmente la concentración de cortisol durante este periodo (90-120 días de gestación) no es significativamente diferente a la de ovinos intactos, de lo que se concluye que la mayoría del cortisol en la sangre de los fetos durante este periodo es originada en la madre más que en el propio feto (Wintour *et al.*, 1980).

El peso de las glándulas adrenales maternas se duplica durante la preñez, así como también existe un incremento progresivo en la secreción basal de cortisol desde las células adrenales maternas *in vitro*, a medida que la gestación progresa. Al final de la gestación (12 a 25 días antes del parto), aproximadamente un tercio del cortisol fetal es de origen materno y 7 a 14 días antes del parto virtualmente todo el cortisol fetal tiene su origen en las glándulas adrenales fetales. Sin embargo, también se encuentra aumentado el clearance sanguíneo para el cortisol, lo que explica el porqué no existen cambios en las concentraciones sanguíneas de cortisol en la oveja preñada. Las razones por las cuales el clearance sanguíneo para el cortisol está aumentado no se conocen, pero se puede deber a una más eficiente metabolización hepática o que exista otro sitio de metabolización del cortisol, por ejemplo la placenta (Hennessy *et al.*, 1982).

Las glándulas adrenales en el feto de oveja se comienzan a reconocer a partir del día 28 de gestación, pero la diferenciación de las células de la corteza aparentemente no ocurre hasta el día 60 de gestación. El peso de las glándulas

adrenales en el feto se incrementa exponencialmente durante los últimos 15-20 días de gestación, al igual como se incrementa el flujo sanguíneo hacia la glándula. Se sugiere que el periodo de mayor replicación del ADN en las células adrenales de la corteza es entre los días 135-143 de gestación, existiendo dos fases de hipertrofia celular, una entre los días 124 y 136, y otra entre el día 143 hasta el día del parto (Challis y Brooks, 1989).

La hipoxia prolongada durante la gestación es asociada con una gran cantidad de entidades clínicas, tales como, malnutrición, anemia, hemoglobinopatías y enfermedades cardíacas y pulmonares.

La mantención de niveles de glucocorticoides elevados por largos periodos puede traer efectos no deseados. La exposición crónica a glucocorticoides puede resultar en la supresión de los procesos anabólicos, más específicamente atrofia muscular o daño en el crecimiento de los tejidos, elementos obviamente no favorables para el normal crecimiento y desarrollo fetal (Meaney *et al.*, 1991).

En fetos de oveja sometidos a hipoxia crónica (más de 90 días) se ha observado una mantención, tanto del cortisol como de la ACTH plasmática en los niveles control. Esto sugiere una alteración en el eje HHA o que el eje HHA mantiene los niveles hormonales en un rango fisiológico “normal” a pesar de la hipoxia crónica (Harvey *et al.*, 1993).

Según lo observado por Gagnon *et al.* (1997), quienes trabajaron con fetos de oveja (0.84 a 0.91 de gestación) embolizados crónicamente durante 10 días, a través del uso de microesferas de látex inyectadas vía catéteres de polivinil en la arteria aorta abdominal, que generó una caída de la presión parcial de oxígeno fetal cercana al 30% y que fueron sometidos durante el

décimo día a una embolización aguda hasta que el pH fetal llegara a un valor cercano a 7 (aproximadamente 6 h), la concentración plasmática fetal de ACTH en el grupo de animales crónicamente embolizados fue menor que en el grupo control ( $27 \pm 7$  pg/mL y  $64 \pm 20$  pg/mL respectivamente). Sin embargo, la respuesta de la ACTH fetal a la embolización aguda fue un incremento en ambos grupos, pero la respuesta del grupo crónicamente embolizado fue significativamente más baja comparada con el grupo control. En el caso del cortisol observaron que en ambos grupos las concentraciones plasmáticas de éste aumentaron en respuesta a la hipoxia inducida en forma aguda, a niveles similares en ambos grupos.

Imamura *et al.* (2004) establecieron que en fetos sometidos a hipoxia crónica, la sensibilidad de la glándula adrenal está aumentada y que el clearance del cortisol a nivel de la placenta y del hígado fetal también aumenta. El balance entre la respuesta adrenal fetal aumentada y el aumento del clearance de cortisol juega un rol muy importante en el mantenimiento de las concentraciones basales del cortisol plasmático en un rango normal, a pesar de la hipoxia crónica subyacente.

En estudios realizados por Hooper *et al.* (1990), para medir las respuestas endocrinas del feto de oveja a la hipoxemia prolongada, a través de la reducción del flujo sanguíneo uterino durante 24 horas en ovejas entre los 110 y 117 días de gestación, se observó un aumento en las concentraciones plasmáticas fetales de cortisol ( $1.44 \pm 0.8$  a  $4.89 \pm 1.5$  nMol/L) en el grupo de animales ocluidos, a partir de las primeras dos horas de oclusión en comparación al grupo control. Las concentraciones se mantuvieron elevadas en comparación al grupo control durante las 24 horas de experimentación, pero tendieron progresivamente a decrecer. En el caso de las catecolaminas, su concentración se encontró elevada a las 2 horas de oclusión,

manteniéndose la norepinefrina significativamente elevada durante las 24 horas de oclusión, en comparación a los valores previos. Las concentraciones de epinefrina, sin embargo, no fueron significativamente diferentes al cabo de 12 horas de oclusión.

En experimentos realizados en ovejas preñadas sometidas a hipoxia crónica (3.820 m.s.n.m), a partir de los 30 días de gestación, no se observó diferencias en los valores de ACTH, cortisol y catecolaminas en comparación con ovejas preñadas y mantenidas en un ambiente normóxico. La concentración de cortisol plasmático fetal se incrementó a medida que la gestación progresaba, pero los valores no fueron significativamente diferentes entre el grupo normóxico y el grupo de animales en condición de hipoxia ( $17 \pm 1.1$  y  $18.1 \pm 0.4$  nMol/L, respectivamente), al igual que la concentración plasmática de ACTH y catecolaminas, que fueron similares entre los dos grupos (Ducsay, 1998).

En un experimento realizado por Carmichael *et al.* (1997), durante el cual se sometió gradualmente a hipoxia durante 4 días a ovejas preñadas (122 a 125 días de gestación), a través de la disminución progresiva de la concentración de oxígeno en el aire inspirado, adicionando 1-2% de dióxido de carbono diariamente, se observó que a pesar de la progresiva caída en la PaO<sub>2</sub> fetal (desde  $23.1 \pm 1.4$  a  $15.3 \pm 1.0$  mmHg) no se hizo evidente un cambio en la concentración plasmática de ACTH y de cortisol, sino hasta el cuarto día, cuando los valores se incrementaron desde  $19 \pm 9$  a  $288 \pm 97$  pg/mL y desde  $1.09 \pm 0.3$  a  $8.11 \pm 2.4$  nMol/L, respectivamente.

En situaciones en las cuales fetos en condición de hipoxia crónica se ven sometidos a un estresor secundario (como la hipotensión), la respuesta de la ACTH es igual que en individuos normóxicos, sin embargo, la respuesta del

cortisol está aumentada. Esto significa que la hipoxia crónica en fetos de oveja predispone a un estado de hipersensibilidad de las glándulas suprarrenales a la acción de la ACTH (Adachi *et al.*, 2004).

La hipoxemia aguda representa un potente estímulo para el incremento en la actividad del eje HHA en el feto. Varios modelos de hipoxemia fetal han sido explorados experimentalmente. Esencialmente, los resultados indican un incremento en la concentración de ACTH circulante, sin embargo, estos cambios son transitorios, con la subsiguiente elevación en las concentraciones de cortisol plasmático. El aumento del cortisol tiende a ser mayor en fetos sometidos a hipoxia a medida que se avanza en la gestación, consecuentemente con la progresiva maduración de las glándulas adrenales fetales (Challis *et al.*, 2001).

En la placenta, al igual que en otros órganos como el hígado, la bioactividad de los glucocorticoides es regulada por la enzima intracelular 11 $\beta$ -hidroxiesteroide dehidrogenasa (11 $\beta$ -HSD), la cual interconvierte los glucocorticoides bioactivos en sus metabolitos inactivos. Existen dos isoformas de la enzima, la 11 $\beta$ -HSD-1 la cual posee tanto actividad dehidrogenasa (cortisol a cortisona) como oxidoreductasa (cortisona a cortisol) y 11 $\beta$ -HSD-2 la cual tiene actividad dehidrogenasa unidireccional, por lo tanto, convierte al cortisol en su metabolito inactivo, cortisona (Imamura *et al.*, 2004).

Clarke *et al.* (2002), demostraron que el cortisol por sí solo es capaz de afectar la concentración placentaria de 11 $\beta$ -HSD-2. La duración de la exposición a la hipoxia juega un rol muy importante en los cambios observados en la expresión génica y la actividad de 11 $\beta$ -HSD-2.

La placenta contiene grandes cantidades de glicógeno sintetizado principalmente a partir de glucosa materna. El feto recibe un suministro continuo de glucosa de la madre a través de la placenta por un mecanismo de difusión facilitada, ya que la glucosa representa el principal combustible fetal. Existen otros hidratos de carbono con concentraciones importantes en el feto, como la fructosa, que representa el 70-80% de los hidratos de carbono contenidos en la sangre, pero su utilización es insignificante, excepto cuando las concentraciones de glucosa sanguínea son bajas (Hafez, 1993).

En ovejas que cursan su gestación a nivel del mar, la concentración plasmática de glucosa a los  $124 \pm 1$  días de edad gestacional (término 145 días de edad gestacional) es de  $45.09 \pm 3.7$  mg/dL y el valor para los fetos a la misma edad gestacional es de  $16.29 \pm 1.08$  mg/dL (Jellyman *et al.*, 2005).

De los nutrientes utilizados para el crecimiento fetal el 50-60% generan energía a través de un metabolismo oxidativo y el 40-50% restante se deposita en los tejidos en forma de reservas metabólicas (glicógeno). El metabolismo fetal está bajo el control casi exclusivo de la insulina, lo cual mantiene al feto en condiciones de anabolismo. La insulina estimula la captación celular de aminoácidos, la síntesis de proteínas y los depósitos de grasa y del glicógeno en el hígado, corazón, tejido muscular y tejido subcutáneo. La concentración materna y fetal de glucosa es la responsable de los niveles de insulina fetal. Bajos niveles de insulina fetal están asociados con retraso del crecimiento intrauterino, así como con una disminución del glicógeno en el hígado y corazón y una disminución del tejido adiposo subcutáneo. Por otra parte, la hiperglicemia materna aumenta la concentración fetal de insulina y se asocia con macrosomía fetal (Perez y Donoso, 1999).

En individuos aclimatados a la altura por un periodo mayor a 3 semanas, se observa que los niveles de insulina en ayuno no presentan diferencias con los individuos a nivel del mar. Sin embargo, los niveles de glucosa plasmática son menores debido al incremento en la utilización de glucosa. En el caso de mujeres embarazadas se observa la misma tendencia para la concentración de glucosa, pero a medida que la gestación avanza las diferencias entre el grupo de altura y el grupo de nivel del mar se van incrementando (Krampl *et al.*, 2001).

En un experimento realizado por Jackson *et al.* (2000), en el cual se sometió a fetos de oveja (119 a 123 días de gestación) a un periodo de dos horas de hiperoxia (para asegurarse de que no exista hipoxia fetal), seguido por un periodo de hipoxia de dos horas, se observó un cambio en las concentraciones plasmáticas de glucosa e insulina, observándose un incremento significativo, de alrededor de un 30% en las concentraciones de glucosa plasmáticas durante el periodo hipóxico (desde  $21.37 \pm 2.14$  a  $26.63 \pm 1.87$  mg %) y una disminución en la concentración de insulina de alrededor de un 50% en comparación al periodo control (desde  $14.05 \pm 2.54$  a  $7.60 \pm 0.96$  mU/mL). Además, se observó un aumento significativo en las concentraciones plasmáticas de norepinefrina desde valores control de  $383 \pm 48.2$  a  $1269 \pm 197$  pg/mL durante el periodo hipóxico.

En una experiencia realizada por Limesand *et al.* (2005), durante la cual se estudió la capacidad de almacenamiento de insulina del páncreas y su concentración en fetos bajo condiciones de restricción intrauterina del crecimiento (IUGR), se observó una menor concentración plasmática de insulina (69% menor) en los fetos con IUGR, con respecto a los fetos control, y de un 76% menor luego de la estimulación con glucosa, lo cual indica que bajo condiciones de restricción del crecimiento intrauterino el páncreas fetal

posee una menor capacidad de respuesta a los estímulos de los secretagogos. Una respuesta observada en los mamíferos a la restricción de nutrientes en fetos con insuficiencia placentaria e IUGR es la reducción en la masa de células  $\beta$  del páncreas fetal.

Bassett y Hanson (1998), al analizar la contribución de las catecolaminas (epinefrina y norepinefrina) a la inhibición del crecimiento durante la preñez en fetos de ovejas, a través de la administración de epinefrina y norepinefrina durante 8 a 10 días en fetos normoxémicos de 118 a 125 días de gestación, observaron una disminución de la concentración plasmática de insulina fetal y un aumento de la concentración plasmática de glucosa fetal en ambos grupos, así como también una disminución del peso fetal de alrededor de un 20% en comparación al grupo control.

En mediciones realizadas a ovejas preñadas entre 115-121 días de gestación, que fueron sometidas a una reducción del flujo sanguíneo uterino, a través de una oclusión de la arteria aorta terminal materna (la cual contribuye con alrededor de un 40% del total del flujo sanguíneo uterino en ovejas cercanas al término), hasta lograr un descenso en la saturación de oxígeno arterial fetal de un 20 a 25%, durante 7 días, se observó que no existen diferencias en la concentración arterial de glucosa fetal entre los grupos control y el grupo de animales ocluidos. Sin embargo, la captación de glucosa fetal disminuyó en el grupo de animales ocluidos en comparación al grupo control, después de 24 hrs de iniciada la reducción del flujo sanguíneo. Esta diferencia desapareció al séptimo día de reducción del flujo. En este experimento también se observó una disminución en la tasa de crecimiento corporal fetal de un 38% en el grupo de animales ocluidos, así como una disminución de un 20% en la ganancia diaria de peso en este mismo grupo (Boyle *et al.*, 1996).

En ovejas sometidas a estrés por calor crónico (40°C por 9 hrs/día y 30°C por 15 hrs/día en comparación a 18 a 20°C) a partir de los 60 días de gestación, se observó un incremento en las concentraciones plasmáticas de insulina, a partir de la mitad de la gestación, pero esta respuesta no fue distinta a la observada en el grupo control. En el caso de la glucosa plasmática, sus concentraciones no fueron significativamente diferentes entre el grupo control y el grupo sometido a calor antes del día 120 de gestación. Sin embargo, entre los 120 y 135 días de gestación, el grupo sometido a calor presentó un aumento en la concentración de glucosa significativo en comparación al grupo control (Bell *et al.*, 1989).

Al incrementar las concentraciones fetales de glucosa, tanto en humanos como en roedores y ovejas, se estimula la secreción de insulina a partir del páncreas fetal. En fetos de oveja la respuesta pancreática al aumento en la concentración de glucosa se incrementa, al menos 4 veces, a partir de la segunda mitad de la gestación. Deprivaciones nutricionales durante las etapas finales del desarrollo pancreático fetal producen efectos negativos en la respuesta de las células  $\beta$  del páncreas, tanto en fetos humanos como de ovejas. La hipoglicemia crónica es capaz de disminuir la repuesta de la insulina en el feto estimulado con glucosa (Limesand y Hay, 2002).

La reducción en la disponibilidad de sustratos energéticos en el feto, como lo son la glucosa, el lactato o los aminoácidos, o tan solo la disminución en la disponibilidad de oxígeno, generan una serie de respuestas adaptativas en el feto que tienden a mantener el aporte de oxígeno y de nutrientes a los órganos más importantes, como lo son el corazón y el cerebro. La naturaleza de la adaptación fetal depende del tiempo, duración y severidad de la disminución de nutrientes. Una reducción global en el aporte de nutrientes al feto, a consecuencia de un ayuno materno de 5 días, produce un pequeño

efecto en la utilización de aminoácidos y en el consumo de oxígeno por parte del feto. Sin embargo, reducciones en el aporte de energía por largos periodos, a causa de ayuno materno por semanas, resultan en una disminución en la tasa de crecimiento fetal, la que se normaliza una vez que la madre vuelve a comer normalmente, lo que indica un cierto grado de adaptación metabólica en el feto durante el periodo de ayuno. A nivel metabólico, la adaptación es más pronunciada y resulta en una elevación en producción de glucosa, una reducción en la captación de lactato a nivel hepático y en un incremento en el catabolismo de los aminoácidos, para suplir a precursores gluconeogénicos como alanina y glutamina (Gardner *et al.*, 2003).

Se debe considerar que la mayoría de los estudios realizados sobre hipoxia durante la gestación, emplean como modelo a ovejas preñadas sometidas a hipoxia inducida artificialmente, ya sea, a través de la disminución del volumen de oxígeno inspirado o por disminución del aporte sanguíneo a la placenta.

No se conoce el comportamiento de las variables fisiológicas analizadas previamente en animales adaptados por varias generaciones y animales recién llegados a un ambiente hipóxico, estando estos además, cursando una gestación. Conocer esta información puede contribuir a comprender las diferencias observadas en el crecimiento fetal y peso al nacimiento entre ovinos adaptados y no adaptados a la hipoxia hipobárica, así como también contribuir a la medicina de la altura.

## **OBJETIVOS.**

### **Objetivo General.**

Determinar el efecto de la hipoxia hipobárica sobre las concentraciones plasmáticas maternas y fetales de cortisol, insulina y glucosa en ovinos adaptados y no adaptados a la altura.

### **Objetivos Específicos.**

- Medir, durante los últimos 3 meses de gestación, las concentraciones de cortisol, insulina y glucosa plasmáticas maternas en ovejas adaptadas y no adaptadas a la altura.

- Medir, durante el último mes de gestación, las concentraciones de cortisol, insulina y glucosa plasmáticas fetales en ovejas adaptadas y no adaptadas a la altura.

- Comparar los valores plasmáticos de cortisol, insulina y glucosa fetal y materna entre individuos adaptados y no adaptados a la altura.

## MATERIALES Y MÉTODO.

El estudio se realizó en el Centro Internacional de Estudios Andinos (INCAS), de la Universidad de Chile, ubicado en la localidad de Putre, I Región de Tarapacá (3589 m.s.n.m., 18°11'48''S 69°33'11''O; Pb =667 hPa).

Se utilizaron 12 ovejas preñadas, de las cuales 6 fueron originarias de la localidad de Putre (grupo altura) y las otras 6 fueron originarias del nivel del mar y llevadas a la altura aproximadamente entre los 30 y 50 días de gestación (grupo subidos). El diagnóstico de gestación se realizó mediante examen ecográfico y la determinación de la edad gestacional se realizó a través de la aplicación de la función de crecimiento intrauterino establecida por Parraguez *et al.* (2005).

Aproximadamente a los 60 días de gestación, se instalaron catéteres de silástico en la arteria y vena femoral a todas las hembras. Para la cirugía se utilizó como premedicación atropina (0.04 mg/Kg, por vía i.m.) y la inducción y mantención anestésica se realizó con ketamina (20 mg/Kg, por vía e.v.) en bolo seguida de la administración de 0.02 mg/Kg/min.

Para acceder a la arteria y vena femoral, se disectó la piel del miembro posterior izquierdo del animal a nivel de la parte distal de la tibia (Figura 1). Posteriormente se separaron los vasos sanguíneos del tejido muscular y fascias y se ligo su porción distal para realizar una pequeña incisión en estos, la cual permitió la introducción de los catéteres de silástico (1.25 mm de diámetro interno y 2.2 mm de diámetro externo), hasta llegar a la aorta abdominal y vena cava caudal (Figura 2).



Figura 1: Exteriorización de vasos sanguíneos para la instalación de catéteres maternos.



Figura 2: Instalación de catéteres maternos.

Los catéteres se fijaron con una ligadura proximal, para luego ser pasados a través del tejido subcutáneo, hasta el flanco izquierdo, donde se almacenaron en un bolsillo de hule suturado a la piel (Figura 3).



Figura 3: Bolsillo de hule donde se mantenían los catéteres maternos y fetales luego de la cirugía.

Después de la cirugía los animales recibieron una dosis de antibióticos consistente en Penicilina G benzatina (6.000 U.I/Kg, i.m.), Penicilina G sódica (200.000 U.I/Kg, i.m.) y Metamizol sódico (40 mg/Kg, i.m.). Los catéteres se mantuvieron con una solución de heparina de 1000 U.I/mL, para evitar la formación de coágulos.

Luego de la cirugía, los animales fueron separados por grupos (altura y subidos) en dos corrales, donde se mantuvieron durante todo el periodo experimental.

A los 120 días de gestación aproximadamente, se instalaron catéteres arteriales y venosos (0.5 mm de diámetro interno y 1.5 mm de diámetro externo) en los fetos, bajo anestesia materna y fetal. El procedimiento anestésico utilizado es el mismo que el mencionado anteriormente para la instalación de los catéteres maternos. El abordaje quirúrgico se realizó mediante una incisión mediana infra-umbilical, luego se palpó útero para ubicar el miembro posterior izquierdo del feto (Figura 4), el cual se

exteriorizó para cateterizar la arteria y vena femoral, de igual manera que en las madres (Figuras 5 y 6).



Figura 4: Incisión mediana infra-umbilical y exposición del útero para el abordaje del miembro posterior del feto.

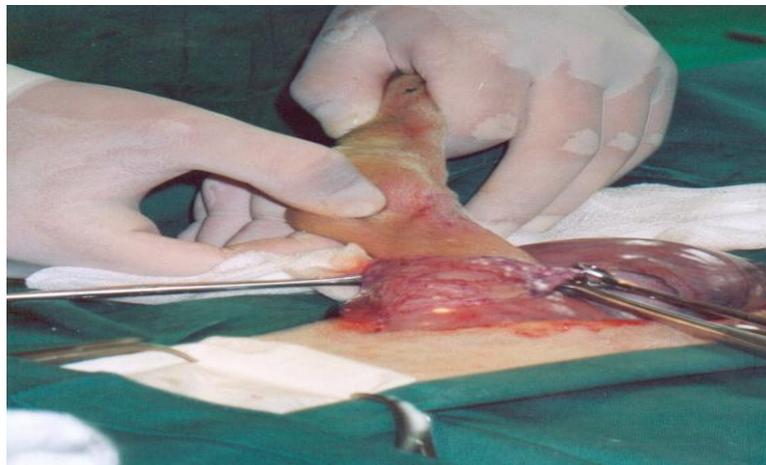


Figura 5: Exteriorización del miembro posterior del feto.

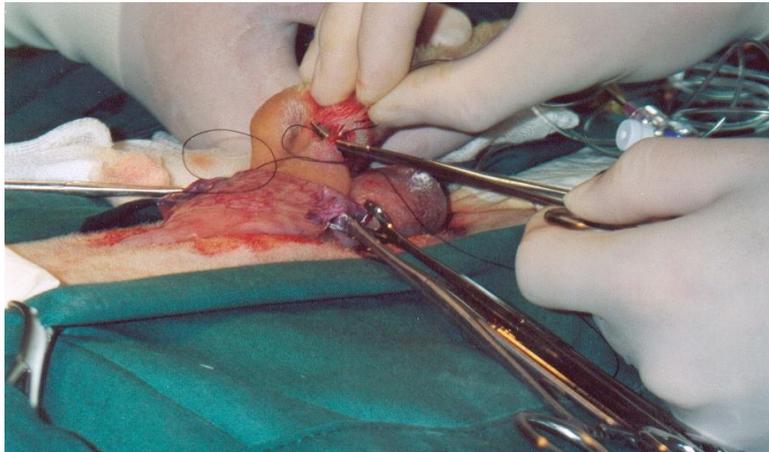


Figura 6: Instalación de catéteres fetales.

Los catéteres fetales fueron exteriorizados desde la cavidad abdominal de la madre hacia el flanco izquierdo para mantenerlos en el mismo bolsillo que contenía los catéteres maternos.

Las hembras recibieron antibióticos por vía intrauterina (1.000.000 U.I/5 mL de Penicilina G sódica) y parenteral (1.000.000 U.I/5 mL de Penicilina G sódica y 1.200.000 UI/5 mL de Penicilina benzatinica), además de Metamizol sódico (40 mg/Kg, i.m.) una vez terminada la cirugía. Para evitar la formación de coágulos en los catéteres fetales, se utilizó la misma solución de heparina utilizada en las madres.

Luego de 5 días de recuperación quirúrgica, se comenzaron a extraer las muestras sanguíneas arteriales y venosas, cada 7 días en el caso de las madres, con un volumen de 2 mL y 2 veces por semana en el caso de los fetos, con un volumen de muestra de 1 mL. Una de estas dos muestras fetales semanales se tomó en forma simultánea con la de la madre.

Para la adecuada toma de muestras, los animales fueron sacados del corral e introducidos en un carro metálico especialmente diseñado para este

propósito, lo que permitió trabajar en forma correcta y a la vez cómoda para el animal (Figura 7).

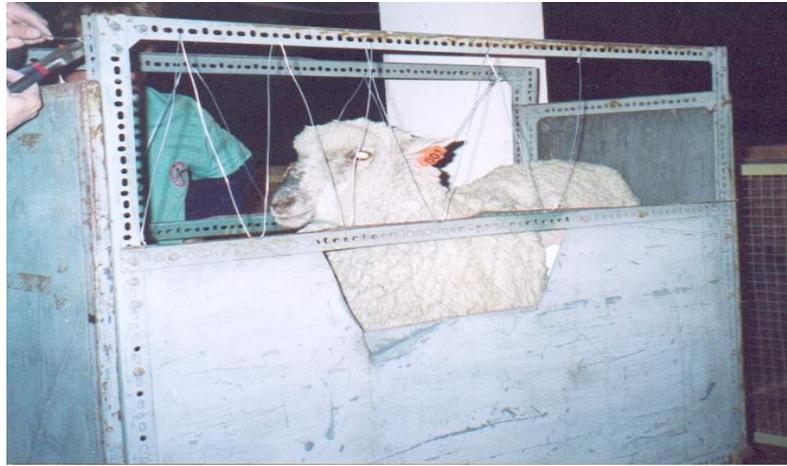


Figura 7: Carro metálico que permitía la correcta toma de muestras

La medición de la concentración de glucosa sanguínea se realizó inmediatamente extraída cada muestra, usando un sensor de glicemia portátil marca GlucoMen PC (A. Menarini Diagnostics, Nápoles, Italia), utilizando una gota de sangre venosa. Este aparato utiliza la metodología electroquímica, donde la glucosa-oxidasas cataliza la oxidación de la gluconolactona. Esta reacción genera una corriente eléctrica que es transferida desde la sangre a los electrodos del sensor. La magnitud de la corriente resultante es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra. Previo al inicio de estas determinaciones, se comprobó la precisión del equipo para medir glicemia a la altura de nuestra estación experimental.

Para la medición de la concentración de insulina y cortisol las muestras se centrifugaron y el plasma resultante fue recolectado y almacenado a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Una vez terminado el periodo de toma de muestras, estas fueron transportadas en un contenedor térmico con hielo seco hasta el laboratorio de Fisiología Animal de la Facultad de Cs. Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, en donde se realizó la medición de estas variables

mediante radioinmunoanálisis, usando los reactivos y la técnica de DPC (Diagnostics Products Company, Los Angeles, CA, EE.UU).

El análisis de los resultados obtenidos para cada variable se comparó dentro de cada grupo y entre grupos a los distintos tiempos de gestación, mediante análisis de varianza de una vía (ANOVA). Posteriormente, se aplicó el método de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer para especificar entre qué rangos de tiempos gestacionales se producen las diferencias. Las diferencias fueron consideradas significativas cuando  $p \leq 0.05$  (nivel de significancia de 95%).

## RESULTADOS.

La duración de la gestación en el grupo altura fue de  $153.4 \pm 5.9$  días, mientras que en el grupo subidos fue de  $148 \pm 3.9$  días. Los pesos de los corderos al nacimiento presentaron valores promedios de  $3.8 \pm 0.4$  Kg para el grupo altura y de  $3.37 \pm 0.27$  Kg para el grupo subidos.

### CORTISOL:

En los fetos (Figura 8), las concentraciones plasmáticas de cortisol no presentaron diferencias significativas entre grupos. Sin embargo, dentro del grupo altura se presentaron diferencias entre el rango 0 a 2 días y el rango de 22 a 35 días antes el parto ( $110.97 \pm 106.1$  y  $8.21 \pm 5.1$  nMol/L, respectivamente). En el caso de las madres (Figura 9) solo existieron diferencias entre los grupos en el último periodo de muestreo (0-5 días antes del parto). Los promedios para la variable durante el periodo de estudio fueron de  $90.61 \pm 57.4$  nMol/L para el grupo altura y de  $67.1 \pm 43.1$  nMol/L para el grupo subidos.

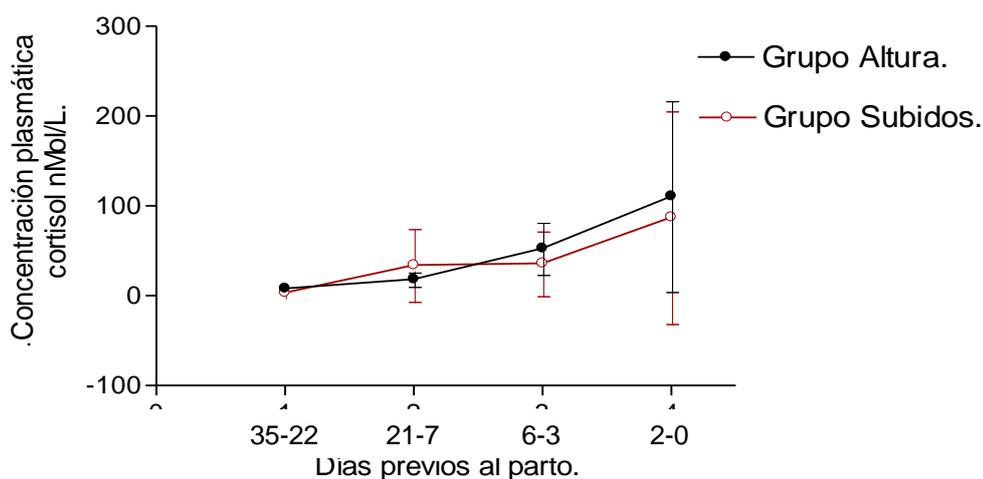


Figura 8. Concentración plasmática de cortisol fetal por rango de días antes del parto.

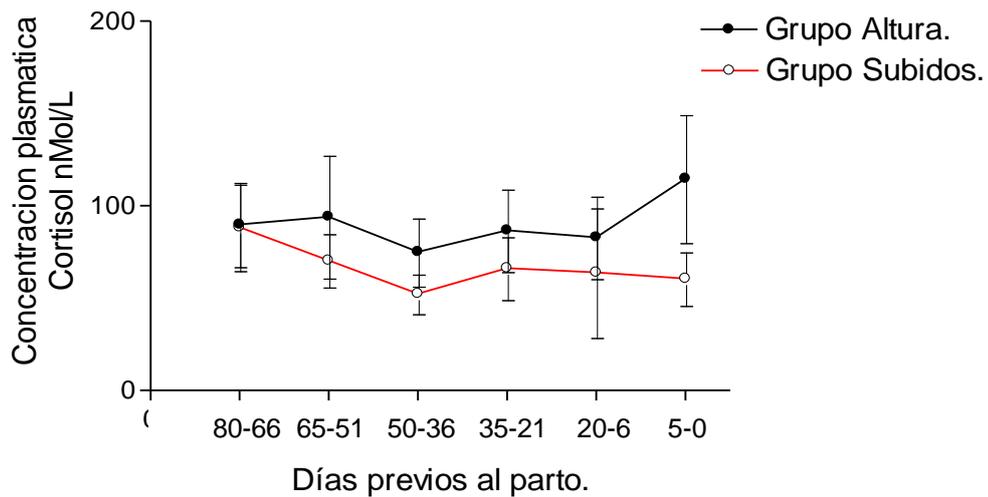


Figura 9. Concentración plasmática de cortisol materno por rango de días antes del parto.

#### INSULINA:

En el caso de los fetos (Figura 10), la concentración plasmática de insulina osciló entre los  $1.54 \pm 0.65$  y  $4.07 \pm 3.5$  uUI/mL, con un promedio de  $2.94 \pm 2.6$  uUI/mL para el grupo altura y un promedio de  $2.36 \pm 1.8$  uUI/mL para el grupo subidos. No se presentaron diferencias estadísticas significativas entre grupos, ni dentro de un mismo grupo. La concentración plasmática de insulina materna (Figura 11) presento valores promedio de  $5.37 \pm 5.2$  uUI/mL para el grupo altura y de  $6.54 \pm 5.1$  uUI/mL para el grupo subidos. No se presentaron diferencias estadísticas significativas entre ambos grupos.

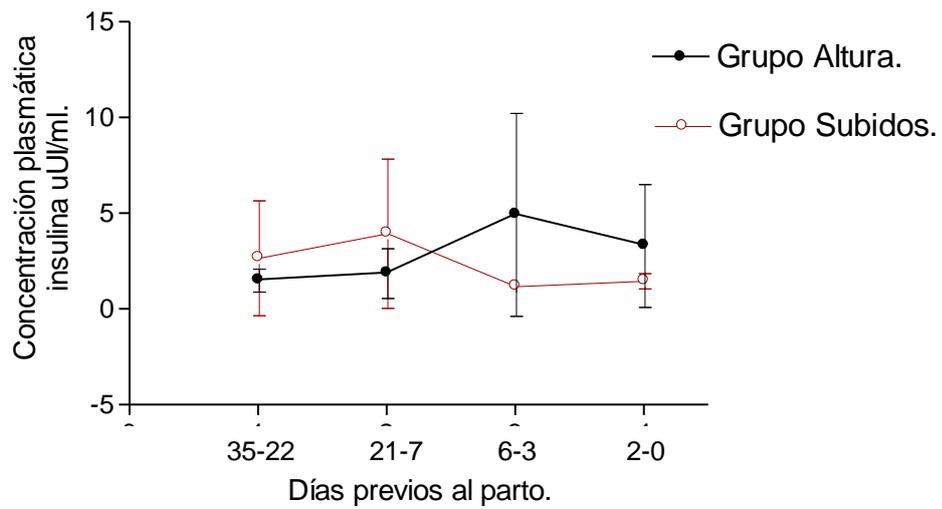


Figura 10. Concentración plasmática de insulina fetal por rango de días antes del parto.

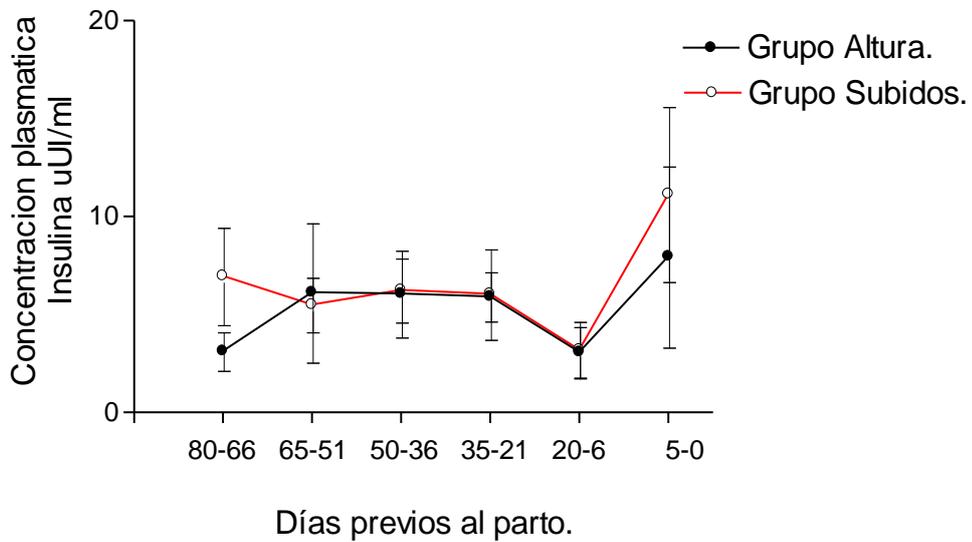


Figura 11. Concentración plasmática de insulina materna por rango de días antes del parto.

## GLUCOSA:

La concentración plasmática fetal de glucosa (Figura 12) presentó un promedio de  $23.74 \pm 2.9$  mg/dL para el grupo altura y un promedio de  $27.08 \pm 7.9$  mg/dL para el grupo subidos. No se presentaron diferencias estadísticas significativas entre grupos ni dentro de un mismo grupo. En el caso de las madres (Figura 13), no se presentaron diferencias significativas entre grupos, con promedios de  $47.52 \pm 11.3$  mg/dL para el grupo altura y de  $51.6 \pm 15$  mg/dL para el grupo subidos. Sin embargo, se observó un alza marcada en las cercanías del parto en ambos grupos.

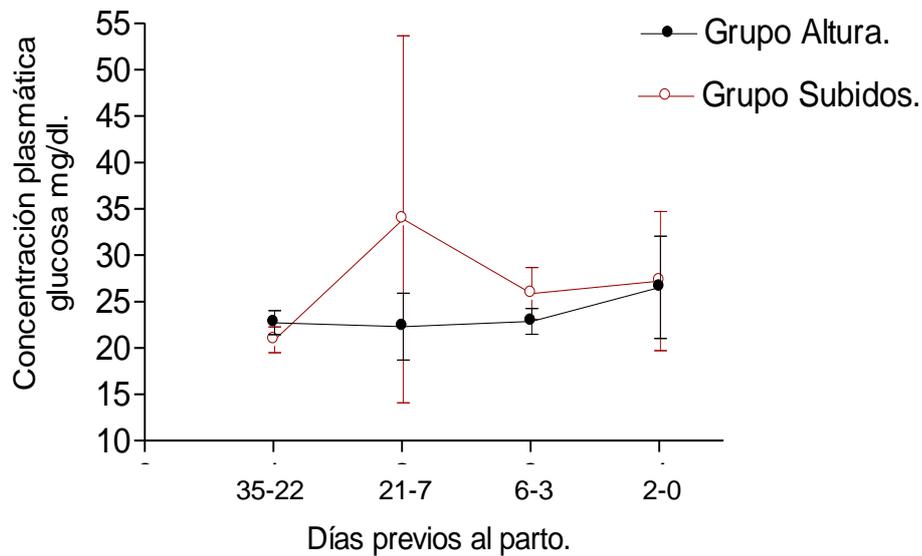


Figura 12. Concentración plasmática de glucosa fetal por rango de días antes del parto.

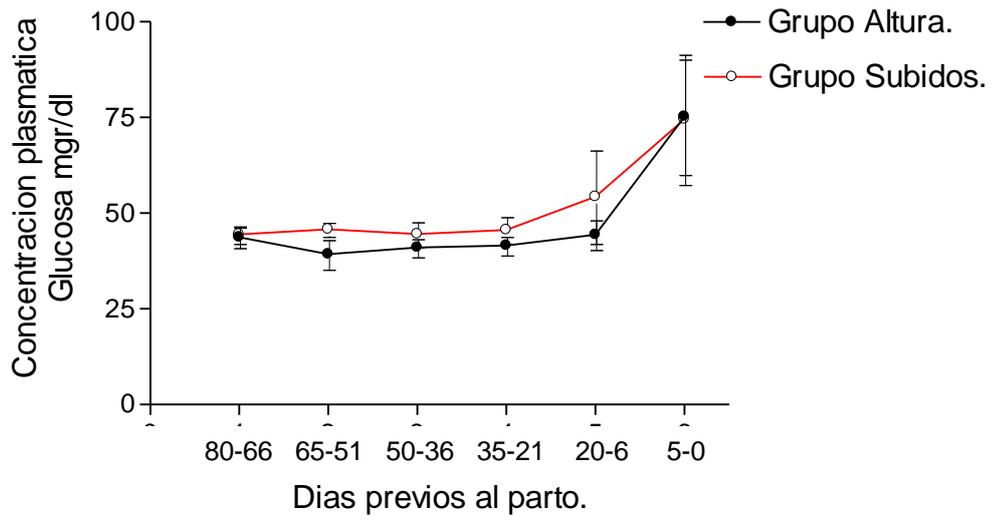


Figura 13. Concentración plasmática de glucosa materna por rango de días antes del parto.

## DISCUSIÓN.

Durante la preñez, en animales que no son originarios de ambientes hipobáricos, como es el caso de los ovinos, la exposición a la altura se ve reflejada con índices reproductivos inferiores en comparación con los registrados en tierras bajas, presentando una disminución en la fertilidad (Parraguez *et al.*, 2006), bajo peso de los recién nacidos (De Carolis, 1987; Parraguez *et al.*, 2005), alta mortalidad neonatal y baja tasa de crecimiento postnatal (De Carolis, 1987; Parraguez *et al.*, 2004).

Los resultados de este estudio evidenciaron, en general, que no existen diferencias significativas dentro de las variables endocrinas estudiadas al comparar madres y fetos nacidos en la altura con las madres y fetos originarios del nivel del mar, que cursaron su gestación en altura.

En el caso del cortisol materno, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores promedio del periodo experimental entre los grupos subidos y altura. La ausencia de diferencias entre ambos grupos sugiere que el lapso de exposición a la hipoxia hipobárica en el grupo de animales subidos, fue suficiente para lograr una adaptación para esta variable. Gardner *et al.* (2001); establecieron que las concentraciones plasmáticas de cortisol en ovejas sometidas a hipoxia crónica no fueron diferentes entre el grupo de ovejas sometidas a hipoxia ( $5.07 \pm 0.79$  nMol/L) y el grupo control ( $3.73 \pm 0.54$  nMol/L). Esto coincide con los resultados obtenidos por Ducsay (1998); quien realizó experimentos con ovejas preñadas sometidas a hipoxia crónica (3.820 m.s.n.m) y las comparo con ovejas preñadas y mantenidas en un ambiente normóxico a partir de los 30 días de gestación, donde no observó diferencias en los valores de ACTH y cortisol. Sin embargo, al final de la gestación no se observó un aumento en la

concentración plasmática de cortisol en el grupo subidos, tal como lo evidencia el grupo altura. Esta diferencia, tal como la tendencia a menores valores de cortisol que presentó el grupo subidos durante todo el periodo de estudio, podría atribuirse al efecto inhibitor de la hipoxia sobre la esteroidogénesis, como ha sido reportada en glándula suprarrenales *in vitro* en individuos no adaptados a la altura (Raff y Bruder, 2006).

En el caso de los fetos, no se observaron diferencias estadísticas significativas entre grupos, aunque las concentraciones de cortisol plasmático se incrementaron a medida que la gestación progresaba. Esto es descrito por Challis *et al.* (2001); como una condición normal dentro de el desarrollo del feto durante los últimos 10 a 15 días de gestación. Además, el mismo autor describe que fetos sometidos a hipoxia más tardíamente durante la gestación, tienden a tener aumentos en las concentraciones de cortisol plasmático mayores a medida que progresa la maduración de la glándula adrenal fetal. A su vez Harvey *et al.* (1993), observaron una mantención tanto de cortisol como de ACTH plasmáticos en los niveles control en fetos de oveja sometidos a hipoxia crónica (más de 90 días). También coinciden con los resultados de Ducsay (1998), quien observó que las concentración de cortisol plasmático fetal se incremento a medida que se acercaba la fecha de parto, pero los valores no fueron significativamente diferentes entre el grupo normóxico y el grupo de animales en condición de hipoxia ( $17.01 \pm 1.08$  y  $18.1 \pm 0.36$  nMol/L, respectivamente). Esta situación difiere de lo observado en fetos ovinos sometidos a un episodio de hipoxia de 48 horas, donde se presenta una elevación transitoria de las concentraciones de cortisol plasmático (Braems y Matthews, 1996).

Parraguez *et al.* (1989), observaron que los valores de cortisol plasmático en fetos de ovejas mantenidas a nivel del mar aumentaban a

medida que la gestación progresaba, con un valor promedio de  $4.07 \pm 0.36$  nMol/L para el rango de 124 a 135 días de gestación. Esto concuerda con el presente estudio, donde el valor promedio para la variable fue de  $5.85 \pm 4.2$  nMol/L, en el rango de 22 a 35 días previos al parto.

Por otra parte, Carmichael *et al.* (1997), sometieron a hipoxia gradual a ovejas preñadas (122 a 125 días de gestación) durante 4 días, observando que a pesar de la caída progresiva de la PaO<sub>2</sub> fetal, no se hizo evidente un cambio en la concentración plasmática de cortisol y ACTH, sino hasta el último día, cuando los valores se incrementaron.

Esto concuerda con la explicación dada por Imamura *et al.* (2004), el cual establece que en los fetos sometidos a hipoxia crónica se ve afectado tanto la sensibilidad de la glándula adrenal como el clearance de cortisol a nivel de la placenta y el hígado. El balance entre la respuesta adrenal aumentada y el aumento del clearance de cortisol, juega un importante rol en el mantenimiento de las concentraciones plasmáticas de cortisol, a pesar de la hipoxia crónica subyacente.

La concentración de insulina plasmática, tanto en fetos como en madres, no presentó diferencias estadísticas significativas entre los grupo (subidos y altura), al igual que dentro de los grupos. Esto concuerda con lo establecido por Krampl *et al.* (2001), quienes observaron que en individuos aclimatados a la altura por un periodo mayor a 3 semanas los niveles de insulina plasmática no presentaban diferencias entre ambos grupos. Además, concuerda con lo establecido por Bell *et al.* (1989), puesto que observaron que en ovejas sometidas a estrés calórico a partir de los 60 días de gestación, comienza un aumento en la concentración de insulina plasmática sin existir

diferencias significativas entre el grupo afectado por estrés en comparación al grupo control.

En el caso de los fetos, la concentración de insulina plasmática no presentó diferencias significativas entre los grupos (altura y subidos), observándose una caída en la concentración en el grupo subidos 20 días previos al parto, lo cual se explica por la menor capacidad del páncreas fetal de responder a la estimulación por glucosa. Limesand *et al.* (2005), observaron que los fetos sometidos a IUGR, poseen una respuesta a la estimulación por glucosa menor que los fetos de gestación normal, observando además una menor proporción de células  $\beta$  en el páncreas de fetos sometidos a IUGR. Aunque nuestro protocolo no contempló el estudio histológico de los páncreas fetales, la disminución del peso al nacimiento, especialmente en el grupo subidos, es consistente con IUGR. La tendencia al aumento de la concentración de insulina previo al parto en las madres, se explicaría por los cambios metabólicos propios de la cercanía al parto, en los que se destaca un aumento de la concentración de cortisol plasmático, el que a su vez estimula la gluconeogénesis hepática, deprimiendo, a su vez, la utilización de glucosa tisular, lo que lleva a un aumento en la concentración plasmática de glucosa y, secundariamente a esto, a un aumento en la concentración de insulina plasmática (Guyton,1986).

En el caso de la glucosa plasmática, tanto en fetos como en madres no se observan diferencias entre los grupos subidos y altura. Sin embargo, en las madres sí se observaron diferencias significativas dentro de los grupos, caracterizándose por un aumento en la concentración en el rango de 0 a 5 días previos al parto. Esto concuerda con lo reportado por Comline y Silver (1972), que observaron un incremento significativo de la glicemia en el último

día de la gestación en ovejas, aunque a concentraciones mayores a las registradas en el presente estudio.

El aumento en la concentración plasmática de glucosa en las madres, ya sean del grupo altura como en el grupo subidos, en el rango de 0 a 5 días previos al parto, puede ser el resultado del aumento de la descarga de catecolaminas que antecede el parto (Comline y Silver, 1972).

En el caso de los fetos no existen diferencias significativas dentro de cada grupo (subidos y altura). Esto concuerda con Boyle *et al.* (1996), que realizaron mediciones en ovejas preñadas entre los 115 a 121 días de gestación sometiéndolas a hipoxia fetal, a través de reducción del flujo sanguíneo uterino y observaron que la concentración plasmática de glucosa fetal no presentaba diferencias significativas entre los grupos (control y ocluidos).

Al comparar los datos promedios obtenidos para la concentración de glucosa sanguínea con los valores entregados por Jellyman *et al.*, (2005), en ovejas que cursaron su gestación a nivel del mar, se observan que los valores no presentan diferencias significativas, tanto para las madres ( $43.6 \pm 6.7$  v/s  $45.09 \pm 3.5$  mg/dL) como para los fetos ( $28.22 \pm 11.7$  v/s  $16.29 \pm 1.08$  mg/dL) a los 124 días de edad gestacional, lo que sugiere que luego de 5 meses de exposición a la altura, las ovejas ya han superado el estrés de cambio del medio ambiente.

En este estudio se observó que los pesos al nacimiento, al igual que la duración de la gestación registrados por los fetos del grupo altura, son mayores a los registrados por los fetos del grupo subidos. Esto concuerda con lo observado por Parraguez *et al.* (2004), quienes establecieron que los pesos al nacimiento, la ganancia diaria de peso y la duración de la gestación de las crías de madres que han pasado varias generaciones en la altura son mayores a los

registrados por las crías de hembras no adaptadas a la altura y que son llevadas a un ambiente hipobárico durante la preñez. También concuerda con lo observado por Boyle *et al.* (1996), quienes realizaron mediciones en ovejas preñadas entre los 115 y 121 días de gestación, sometidas a hipoxia fetal por reducción del flujo sanguíneo uterino y observaron una marcada desaceleración en la tasa de crecimiento fetal. Sin embargo, a pesar de la disminución en la tasa de crecimiento fetal observada durante este corto periodo de la gestación (5% del largo total aproximadamente), no se observaron cambios en el pH arterial fetal, como tampoco en la captación y concentración de glucosa plasmática fetal, tal como reportamos en el presente estudio.

## CONCLUSIONES.

1. La exposición a la hipoxia hipobárica durante los últimos 3 meses de gestación en ovejas adaptadas y no adaptadas a la altura, no produjo diferencias evidentes en los patrones plasmáticos de cortisol, insulina y glucosa en las madres.

2. La exposición a la hipoxia hipobárica durante el último mes de gestación en ovejas adaptadas y no adaptadas a la altura, no produjo diferencias evidentes en los patrones plasmáticos de cortisol, insulina y glucosa en los fetos.

3. Los fetos de ovejas adaptadas a la altura, presentaron una tendencia a mayores concentraciones plasmáticas de insulina y menor glicemia, lo que podría ser uno de los cambios que explica el mayor peso al nacimiento obtenido por los corderos de este grupo. No se registraron cambios en las concentraciones plasmáticas de cortisol en este grupo.

## **BIBLIOGRAFIA**

- **ADACHI, K.; UMEZAKI, H.; KAUSHAL, K.M.; DUCSAY, A.** 2004. Long-term hypoxia alters ovine fetal endocrine and physiological responses to hypotension. *Am. J. Physiol. (Reg. Int. Comp. Physiol.)* 287: R209-R217.
  
- **BASSETT, J.M.; HANSON, C.** 1998. Catecholamins inhibit growth in fetal sheep in the absence of hypoxemia. *Am. J. Physiol. (Reg. Int. Comp. Physiol.)* 274: 1536-1545.
  
- **BELL, A.W.; McBRIDE, B.W.; SLEPETIS, R.; EARLY, R.J.; CURRIE, W.B.** 1989. Chronic heat stress and prenatal development in sheep: Conceptus growth and maternal plasma hormones and metabolites. *J. Anim. Sci.* 67: 3289-3299.
  
- **BOYLE, D.W.; LECKLITNER, S.; LIECHTY, A.** 1996. Effect of prolonged uterine blood flow reduction on fetal growth in sheep. *Am. J. Physiol. (Reg. Int. Comp. Physiol.)* 270: 246-253.
  
- **BRAEMS, G.A.; MATTHEWS, S.G.** 1996. Differential regulation of proopiomelanocortin messenger ribonucleic acid in the pars distalis and pars intermedia of the pituitary gland after prolonged hypoxemia in fetal sheep. *Endocrinology* 137: 2731-2738.
  
- **CARMICHAEL, L.; SADOWSKY, D.; OLSON, D.; CHALLIS, J.R.G.; RICHARDSON, B.** 1997. Activation of the fetal hypothalamic-pituitary-adrenal axis with prolonged and graded hypoxia. *J. Soc. Gynecol. Invest.* 4: 8-14.
  
- **CHALLIS, J. R. G.; BROOKS, N.** 1989. Maturation and activation of hypothalamic-pituitary-adrenal function in fetal sheep. *Endocrine Rev.* 10: 182-203.

- **CHALLIS, J.R.G.; SLOBODA, D.; MATTHEWS, S.G.; HOLLOWAY, A.; ALFAIDY, N.; PATEL, F.A.; WHITTLE, W.; FRASER, M.; MOSS, T. J. M.; NEWNHAM, J.** 2001. The fetal placental hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis, parturition and post natal health. *Mol. Cel. Endocrinol.* 185: 135-144.
  
- **CLARKE, K.A.; WARD, J.W.; FORHEAD, A.J.; GIUSSANI, D.A.; FOWDEN, A.L.** 2002. Regulation of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 activity in ovine placenta by fetal cortisol. *J. Endocrinol.* 172: 527-534.
  
- **COMLINE, R.S.; SILVER, M.** 1972. The composition of foetal and maternal blood during parturition in the ewe. *J. Physiol.* 222: 233-256.
  
- **DE CAROLIS, G.** 1987. Descripción del sistema ganadero y hábitos alimentarios de camélidos domésticos y ovinos en el bofedal de Parinacota. Tesis para optar al título profesional de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad de Chile. 261pp.
  
- **DUCSAY, C.H.** 1998. Fetal and maternal adaptations to chronic hypoxia: Prevention of premature labor in response to chronic stress. *Comp. Biochem. Physiol.* 119: 675-681.
  
- **GAGNON, R.; MUROTSUKI, J.; CHALLIS, J.R.G.; FRAHER, L.; RICHARDSON, B.** 1997. Fetal sheep endocrine responses to sustained hypoxemic stress after chronic fetal placental embolization. *Am. Physiol. Soc.* 272: E817-E823.
  
- **GARDNER, D.S.; FLETCHER, A.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.

- **GARDNER, D.S.; GIUSSANI, D.A.; FOWDEN, A.L.** 2003. Hindlimb glucose and lactate metabolism during umbilical cord compression and acute hypoxemia in the late-gestation ovine fetus. *Am. J. Physiol. (Reg. Int. Comp. Physiol.)* 284: R954-R964.
  
- **GONZÁLEZ, H.; GUNDERMANN, H.; ROJAS, R.** 1993. Diagnóstico y estrategia de desarrollo campesino en la I Región de Tarapacá. Corporación Norte Grande. Taller de Estudios Andinos (TEA). Impresos publicitarios. Iquique. Chile. 246 pp.
  
- **GUYTON, A.C.** 1986. Textbook of medical physiology. 7<sup>a</sup> ed. Saunders. Philadelphia. EE.UU. pp: 917-998.
  
- **HAFEZ, E.S.E.** 1993. Reproducción e inseminación artificial en animales. 6<sup>a</sup> ed. Interamericana McGraw-Hill. México DF, México. pp: 55-88.
  
- **HARVEY, L. M.; GILBERT, R. D.; LONGO, L. D.; DUCSAY, C.A.** 1993. Effects of long-term high altitude hypoxemia on adrenal responsiveness in the fetal sheep. *Am. J. Physiol.* 264: 741-747.
  
- **HENNESSY, D.P.; COGHLAN, J.P; HARDY, K.J.; SCOGGINS, B.A.; WINTOUR, E.M.** 1982. The origin of cortisol in the blood of fetal sheep. *J. Endocr.* 95: 71-79.
  
- **HOOPER, S. B.; COULTER, C.L.; DEAYTON, J. M.; HARDING, R.; THORBURN, G. D.** 1990. Fetal endocrine responses to prolonged hypoxemia in sheep. *Am. Physiol. Soc.* 14: 267-272.
  
- **IMAMURA, T.; UMEZAKI, H.; KAUSHAL, K.M.; DUCSAY, C.** 2004. Long-term hypoxia alters endocrine and physiologic responses to umbilical cord occlusion in the ovine fetus. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 11: 131-140.
  
- **I.N.E.** 1997. VI Censo nacional agropecuario. Resultados preliminares. Instituto Nacional de Estadísticas, Chile. pp: 414-415.

- **JACKSON, B.T.; PIASECKI, G.; COHN, H.; COHEN, W.** 2000. Control of fetal insulin secretion. *Am. J. Physiol. (Reg. Int. Comp. Physiol.)* 279: R2179-R2188.
  
- **JELLYMAN, J.K.; GARDNER, D.S.; EDWARDS, C.M.; FOWDEN, A.L.; GIUSSANI, D.A.** 2005. Fetal cardiovascular, metabolic and endocrine responses to acute hypoxaemia during and following maternal treatment with dexamethasone in sheep. *J. Physiol.* 562: 673-688.
  
- **KAYSER, B.; MARCONI, C.; AMATYA, T.; BASNYAT, B.; COLOMBINI, A.; BROERS, B.; CERRETELLI, P.** 1994. The metabolic and ventilatory response to exercise in tibetans born at low altitude. *Respir. Physiol.* 98: 15-26.
  
- **KRAMPL, E.; KAMETAS, N.; NOWORNY, P.; RODEN, M.; NICOLAIDES, K.** 2001. Glucose metabolism in pregnancy at high altitude. *Diabetes Care* 24: 817-822.
  
- **LIMESAND, S.W.; HAY, W.** 2002. Adaptation of ovine fetal pancreatic insulin secretion to chronic hypoglycaemia and euglycaemic correction. *J. Physiol.* 547/1: 95-105.
  
- **LIMESAND, S.W.; ROZANCE, P.J.; ZERBE, G.O.; HUTTON, J.C.; HAY, W.W.** 2005. Attenuated insulin release and storage in fetal sheep pancreatic islets with intrauterine growth restriction. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 291: E404-411.
  
- **MEANEY, M.J.; VIAU, V.; BHATNAGAR, S.; BETITO, K.; INY, L.J.; O'DONNELL, D.; MITCHELL, J.B.** 1991. Cellular mechanisms underlying the development and expression of individual differences in the hypothalamic-pituitary-adrenal stress response. *J. Steroid Mol. Biol.* 39:265-274.
  
- **MUNCK, A.; GUYRE, P.M.; HOBROOK, N.J.** 1984. Physiological function of glucocorticoids in stress and their relations to pharmacological actions. *Endocrine Rev.* 5: 25-44.

- **PARRAGUEZ, V.H.; VERGARA, M.; RIQUELME, R.; RAIMANN, R.; LLANOS, A.J.; SERÓN-FERRE, M.** 1989. Ontogeny of the circadian rhythm of cortisol in sheep. *Biol. Reprod.* 40: 1137-1143.
  
- **PARRAGUEZ, V.H.; ATLAGICH, M.; DIAZ, R.; BRUZZONE, M.E.; BEHN, C.; RAGGI, L.A.** 2004. Lambs growth at high altitude: comparisson between animals with different time of adaptation to hypoxic environment. *Agro-ciencia.* 20: 39-45.
  
- **PARRAGUEZ, V.H.; ATLAGICH, M.; DIAZ, R.; BRUZZONE, M.E.; BEHN, C.; RAGGI, L.A.** 2005. Effects of hypobaric hypoxia on lamb intrauterine growth: Comparisson between high and low altitude native ewes. *Reprod. Fert. Dev.* 17: 497-505.
  
- **PARRAGUEZ, V.H.; ATLAGICH, M.; BEHN, C.; BRUZZONE, M.E.; RAGGI, L.A.** 2006. Fertility in ewes at high altitude: comparision between animals with long- and short-time residents at high altitude and the affect of antioxidants vitamins. *Reprod. Dem. Anim.* 41: 372. Abstract 254.
  
- **PEREZ, A.; DONOSO, E.** 1999. *Obstetricia.* 3<sup>a</sup> ed. Publicaciones Técnicas Mediterráneo. Santiago. Chile. pp:147-160.
  
- **RAFF, H.; BRUDER, E.D.** 2006. Steroidogenesis in human aldosterone-secreting adenomas and adrenal hyperplasias: effects of hypoxia in vitro. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 290: E199-E203.
  
- **ROOS, T.B.** 1967. Steroid synthesis in embryonic and fetal rat adrenal tissue. *Endocrinology.* 81: 716-728.
  
- **VITZTHUM, V.J.; ELLISON, P.T.; SUKALICH, S.; CACERES, E.; SPIELVOGEL, H.** 2000. ¿Does hypoxia impair ovarian function in Bolivia women indigenous to high altitude?. *High. Alt. Med. Biol.* 1:39-49.

- **WEBB, P. D.;** 1980. Development of the adrenal cortex in the fetal sheep: an ultrastructural study. *J. Dev. Physiol.* 2: 161-181.
  
- **WINTOUR, E.M.; COGHLAN, J.P.; HARDY, K.J.; HENNESSY, D.P.; LINGWOOD, B.E.; SCOGGINS, B.A.** 1980. Adrenal corticosteroids and immunoreactive ACTH in chronically cannulated ovine foetuses with bilateral adrenalectomy. *Acta Endocrinol.* 95: 546-552.

