

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

UNIDAD DE POST GRADO

Efecto del ketoprofeno sobre la presión arterial pulmonar en terneros jersey sometidos a hipoxia de la altura

TESIS para optar el Título de: MEDICO VETERINARIO

Boris Antonio Lira Mejia

LIMA – PERÚ 2004

RESUMEN

Se ha estudiado el efecto del ketoprofeno, un anti prostaglandínico bloqueador de la enzima ciclooxigenasa, sobre la presión arterial pulmonar media (PAPm) en 10 terneros Jersey, machos, de 1 a 2 meses de edad, nacidos a nivel del mar y expuestos durante 3 días a una hipoxia ambiental de 3 320m. de altitud; los cuales fueron divididos en 2 grupos de 5 animales cada uno: Grupo Control que recibió placebo y Grupo Tratamiento al que se le suministró ketoprofeno, en dosis de 3mg/kg de peso vivo, por 5 días consecutivos, durante su estadía a nivel del mar. La PAPm se determinó mediante la técnica de cateterismo cardiaco a nivel del mar y al tercer día de su arribo a dicha altitud. Los valores promedio de la PAPm (mmHg) a nivel del mar fueron de $19,00 \pm 0,94$ para el Grupo Control y $21,00 \pm 3,39$ para el Grupo Tratamiento, y en la altura de $39,50 \pm 6,00$ para el Grupo Control y $31,25 \pm 5,70$ para el Grupo tratamiento. Al no existir diferencia por efecto del ketoprofeno, se analizaron ambos grupos en conjunto obteniéndose los siguientes resultados de la PAPm: A nivel del mar $20,00 \pm 2,68$ y al tercer día de exposición a la altura $35,28 \pm 7,16$. Estos resultados nos inducen a sugerir que el ketoprofeno no tuvo efecto significativo ($p > 0.05$) sobre la PAPm en los terneros Jersey sometidos durante 3 días a la hipoxia de la altura; sin embargo sólo la exposición a dicha hipoxia incrementó significativamente ($p < 0.05$) la PAPm.

Palabras clave: Ketoprofeno, terneros Jersey, presión arterial pulmonar media, cateterismo cardiaco, hipoxia.

SUMMARY

The effect of ketoprofen, an antiprostaglandin substance that inhibits the enzyme ciclooxigenase, had been studied on the mean pulmonary arterial pressure (mPAP) in 10 Jersey, male calves, from 1 to 2 months old. They were born at sea level and exposed during 3 days to an environmental hypoxia of 3200m. of altitude and were divided in 2 groups of 5 animals each: Control Group which received distilled water as placebo, and Treatment Group which received ketoprofen in dose of 3mg/kg body weight for 5 consecutive days during its permanence at sea level. The mPAP was determined by cardiac catheterism at sea level and 3 days after arriving to altitude. The mean values of mPAP (mmHg) at sea level were: Control Group $19,00 \pm 0,94$ and Treatment Group $21,00 \pm 3,39$; whereas at the altitude were: Control Group $39,50 \pm 6,00$ and Treatment Group $31,25 \pm 5,70$. Since there was not significant effect due to ketoprofen, the two groups were joined and analysed together, obtaining the following values for mPAP: At sea level $20,00 \pm 2,68$ and at day 3 of exposition to altitude $35,28 \pm 7,16$. These results induce us to suggest that ketoprofen have not significant effect ($p > 0,05$) on the mPAP in Jersey calves exposed during 3 days at altitude hypoxia, however just the effect of this hypoxia increased significantly ($p < 0,05$) the mPAP.

Key words: Ketoprofen, Jersey calves, mean pulmonary arterial pressure, cardiac catheterism, hypoxia.

LISTA DE CUADROS

Cuadro N° 1. PAPm (mmHg) en terneros Jersey de los grupos control y tratados con ketoprofeno a nivel del mar y al tercer día de exposición a la altura.

Cuadro N° 2. PAPm (mmHg) en terneros Jersey a nivel del mar y al tercer día de exposición a la altura.

Cuadro N° 3. Frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria y temperatura en terneros Jersey de los grupos control y tratados con ketoprofeno, a nivel del mar y al tercer día de exposición a la altura.

Cuadro N° 4. Frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria y temperatura en terneros Jersey a nivel del mar y al tercer día de exposición a la altura.

I. INTRODUCCIÓN

La baja presión de oxígeno (hipoxia ambiental) y el frío son características de las zonas de altura, los cuales afectan a la mayoría de las especies animales siendo el bovino una de las especies más susceptibles, y la respuesta más característica a estos factores es el desarrollo de una vasoconstricción de la arteria pulmonar que conlleva a una hipertensión arterial pulmonar. Esta vasoconstricción es consecuencia de la liberación de sustancias vasoactivas por el endotelio tales como las prostaglandinas, tromboxanos, la endotelina 1 y otros. De estas sustancias vasoactivas las prostaglandinas y los tromboxanos son producidos a partir del ácido araquidónico por acción de la enzima ciclooxigenasa (COX).

El ketoprofeno es un antiinflamatorio no esteroideo cuya función es bloquear la acción de la COX para evitar la formación de prostaglandinas y tromboxanos involucrados en la respuesta vasoconstrictora arterial pulmonar.

La raza de bovinos Jersey destaca por su rusticidad, y su adaptación a distintos tipos de clima y suelo, por su menor tamaño (350-450kg) en relación a otras razas. Por otro lado presenta características favorables de valor económico como una mayor cantidad de grasa, proteína y sólidos totales en la leche a diferencia de otras razas, con una menor producción láctea (Aso-Jersey, 2001). Se han realizado en la altura investigaciones sobre la presión arterial pulmonar en bovinos de las razas Holstein y Brown Swiss, pero no en bovinos de la raza Jersey. Por tal motivo se planteó el siguiente estudio con el objetivo de evaluar la respuesta de la presión arterial pulmonar en terneros de la raza Jersey con previo tratamiento de ketoprofeno y sometidos a hipoxia de la altura.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Hipertensión pulmonar y Mal de Altura:

La baja presión de oxígeno (hipoxia ambiental) y el frío que predomina en la altura afecta a la mayoría de especies animales, siendo el bovino una de las especies más susceptibles. La respuesta más característica a estos factores es el desarrollo de una hipertensión arterial pulmonar (HAP) (Alexander *et al.*, 1960; Will *et al.*, 1962; Reeves *et al.*, 1963; Chauca y Bligh, 1976; Ayón y Cueva, 1998), lo cual ocurre como resultado del estrechamiento del lumen de las arterias pulmonares debido a la vasoconstricción, hipertrofia e hiperplasia de las células musculares lisas de la arteria pulmonar (Archer y Michelakis, 2002; Bradbury *et al.*, 2002). La HAP se caracteriza por un incremento de la resistencia vascular pulmonar que dificulta la expulsión de sangre por el ventrículo derecho, produciendo una hipertrofia y dilatación cardíaca e insuficiencia cardíaca congestiva con falla del ventrículo derecho, que son las características de la enfermedad del mal de altura (Cueva, 1968; Velásquez, 1988).

Las células musculares lisas vasculares y las células endoteliales juegan roles importantes en el desarrollo de la HAP (Veysier-Belot y Cacoub, 1999). Cuando la hipoxia es prolongada, la HAP no es solamente el resultado del incremento del tono del músculo liso y de la policitemia, sino también de la remodelación estructural de las arterias pulmonares distales (Brij y Peacock, 1998; Weissmann *et al.*, 2001; Raffestin *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2002).

El mal de altura se reconoció en las áreas montañosas de Colorado (Estados Unidos) desde fines del siglo XIX, y el primer reporte de la enfermedad fue hecho por Glover y Newson en 1915 (Will *et al.*, 1962). Igualmente se reporta la enfermedad en forma espontánea en las montañas Rocallosas de Norteamérica, las montañas de los Andes de Sudamérica y las elevaciones montañosas del este de África (Kuida *et al.*, 1962).

Algunas especies animales como los bovinos, equinos y las aves desarrollan una HAP más severa cuando son expuestos a la altura en comparación a otras especies como los caninos y los caprinos (Tucker *et al.*, 1975; Raffestin *et al.*, 2002).

La incidencia de la enfermedad ocurre en un 0.5 a 2% en el ganado bovino nativo a altitudes mayores a los 2 130 m.s.n.m. y entre el 10% a 40% en animales introducidos de bajas altitudes (Gaspar, 1969; Will *et al.*, 1975; Ayón *et al.*, 1989), siendo la heredabilidad para la HAP por hipoxia ambiental de $h^2 = 0.46$ (Ames, 2001); por lo tanto, es posible manejar este parámetro para seleccionar animales resistentes a la altura.

La susceptibilidad varía con la edad, raza, producción y sexo; siendo los terneros más susceptibles; los machos más que las hembras y la raza Holstein más que el ganado Brown Swiss y los animales de mayor producción son más susceptibles (Gaspar, 1969). Existe una variación temporal en la incidencia de la enfermedad natural en bovinos con una ocurrencia mayor en otoño e invierno, especialmente cuando cursan periodos de clima extremo (Smith y Hamlin, 1981).

La hipoxia incrementa la actividad simpática jugando un rol crítico en la regulación de la frecuencia cardiaca, volumen sistólico y frecuencia respiratoria (Mazzeo *et al.*, 1998). El incremento de la frecuencia cardiaca puede ser el primer paso necesario para la aclimatación y la consiguiente adaptación a la altura (Noel – Jorand y Burnet, 1994). La reducida tolerancia a la altura está asociada con una baja ventilación y una respuesta vascular incrementada (Hohenhaus *et al.*, 1995). La estimulación de la ventilación a través de la activación de quimiorreceptores arteriales periféricos, no es suficiente para reducir los niveles de eritropoyetina y de policitemia (Favier *et al.*, 1997).

2.2. Respuesta celular a la hipoxia:

El mecanismo primario de la vasoconstricción pulmonar hipóxica (VPH) está contenida dentro del sistema vascular pulmonar, siendo el principal sitio anatómico de la respuesta a la hipoxia las arteriolas pulmonares distales o de resistencia (Sylvester, 2001).

La VPH ha sido demostrada en todas las especies hasta ahora examinadas. En humanos hay un incremento en la resistencia vascular pulmonar de aproximadamente 50% cuando la presión de oxígeno (PO_2) alveolar cae por debajo de 50mmHg (Harris y Heath, 1986).

La vasoconstricción hipóxica ocurre en pulmones aislados y perfundidos, en anillos de pequeñas arterias pulmonares, en aislados de células musculares vasculares lisas y en trasplantes de pulmones humanos siendo la evidencia más convincente que las conexiones del sistema neural no son necesarias para la respuesta (Dumas *et al.*, 1999), aunque la magnitud de la VPH es modulada por mediadores circulantes y del sistema nervioso autónomo (Archer y Michelakis, 2002).

En la exposición aguda a la hipoxia se altera la actividad de los canales de Potasio (K^+) de las células musculares lisas, cerrando uno o más tipos de canales de K^+ que están usualmente abiertos bajo condiciones de normoxia (Dumas *et al.*, 1999); esta inhibición de canales de K^+ puede provocar la despolarización de la membrana y el aumento de la concentración de Calcio citoplasmático $[Ca^{2+}]_i$ lo que ocasiona la contracción de las células musculares lisas pulmonares, que se manifiesta como hipertensión pulmonar (Post *et al.*, 1995; Ward y Aaronson, 1999). La inhibición de los canales de K^+ por la hipoxia se da principalmente en la familia de los canales de K^+ dependientes de voltaje (K_v) (Patel *et al.*, 1997; Archer *et al.*, 1998).

También ha sido demostrada la modulación de la actividad de los canales de K_v en la exposición crónica a la hipoxia de las células musculares lisas de las arterias pulmonares de ratas (Reeve *et al.*, 1997), identificando un canal K_v específico el cual tiene una regulación

baja, dentro de estos tenemos los subtipos K_v 1.5 y K_v 1.2 (Wang *et al.*, 1997). Otros investigadores demostraron en las células musculares lisas de arterias pulmonares de ratas la expresión de las subunidades de los canales K_v 1.5 y K_v 2.1 (Archer *et al.*, 1998).

En las células musculares vasculares lisas sistémicas cerebral, mesentérica y renal el flujo de K no está inhibido en respuesta a la hipoxia, sugiriendo que los canales de K sensibles al ATP (K_{ATP}) están abiertos, y por lo tanto se produce una hiperpolarización de la membrana la cual inhibe la entrada de Calcio, ocasionando una relajación de las células musculares lisas vasculares lo cual se manifiesta como una vasodilatación sistémica (Brij y Peacock, 1998), similar ocurre en las arterias pulmonares proximales o conductuales (Bennie *et al.*, 1991).

Además, en las arterias pulmonares proximales se observó una inhibición de los canales de Calcio tipo L, mientras que su flujo mejora en los canales de Calcio de las arterias pulmonares distales (Franco-Obregon y Lopez-Barneo, 1996a, 1996b; Archer *et al.*, 2000). Falta determinar si la hipoxia puede afectar directamente a los canales de K^+ y Calcio o si estos requieren de un sensor de oxígeno intermediario (Peers, 1997).

El mecanismo de la contracción del músculo liso se da por el incremento de la actividad de la enzima Fosfolipasa C vía proteínas G, que cataliza al fosfatidilinositol -4,5-bifosfato (PIP_2) el cual es un lípido de la membrana celular para la formación de dos segundos mensajeros, el inositol -1,4,5- trifosfato (IP_3) y el diacilglicerol. El IP_3 se une a su receptor específico en el retículo sarcoplásmico causando la liberación de Calcio, como también ingresa del espacio extracelular a través de canales de Calcio en la membrana celular (dependientes de voltaje/ dependientes de receptor). El diacilglicerol junto con el Calcio activa protein kinasa C (Pkc). Este incremento del $[Ca^{2+}]_c$ unido a la calmodulina lleva a la activación de la cinasa de la cadena ligera de la miosina (MLCk) y se une a la actina ocasionando los puentes cruzado cíclicos e iniciando la contracción muscular. La contracción es mantenida por un mecanismo de sensibilización que inhibe la actividad de la enzima fosfatasa que actúa en la cadena ligera de la miosina (MLCfosfatasa) por acción de la enzima Rho kinasa. Esta sensibilización involucra a la Fosfolipasa C que mediante la

acción del factor intercambiador de nucleótido guanina (Rho GEF) la guanosina trifosfato (GTP) se une a la proteína RhoA incrementando la actividad de la Rho kinasa cuya función es la inhibición de la enzima MLCfosfatasa. La relajación del músculo liso se da por la disminución $[Ca^{2+}]_c$ a través de la salida de Calcio del citoplasma por la membrana del retículo sarcoplásmico (bomba Calcio Magnesio ATPasa) y por la membrana celular (intercambiador Na^+/Ca^{++}), además cerrando canales de Calcio dependientes de voltaje y receptores. Esta disminución del $[Ca^{2+}]_c$ incrementa la actividad de la MLCfosfatasa (Brij y Peacock, 1998; Sylvester, 2001; Webb, 2003).

La hipoxia puede producir constricción en otros vasos, tal es el caso de las venas (Zhao *et al.*, 1993); pero hay poca evidencia que indique que la constricción de las venas sea un factor importante en respuesta a la hipoxia.

Como ya se dijo los canales Kv conocidos como reguladores del potencial de membrana en el músculo liso vascular están inhibidos por la hipoxia (Archer *et al.*, 2000), sin embargo otros autores manifiestan que la VPH no se previno por la 4-aminopiridina (4-AP), un bloqueador de canales de Kv, dejando dudas acerca de que estos canales jueguen un rol exclusivo (Sham *et al.*, 2000; Sylvester, 2001). Otras posibilidades incluyen a los canales de cloruro dependientes de calcio y a un subtipo de canal Kv insensible al 4-AP (Sylvester *et al.*, 2001).

El mecanismo por el cual la hipoxia altera la activación de los canales es frecuentemente atribuida a la modulación redox (Weir y Archer, 1995). Se ha propuesto que la hipoxia y los inhibidores de la cadena de transporte electrónico mitocondrial actúan en sitios próximos a la producción de las especies reactivas de oxígeno (ROS); primero con un rápido cambio en el estado redox del pulmón hacia una reducción, ocasionando una disminución de las ROS y esto es seguido por una inhibición del flujo de K^+ , independiente del ATP en las células musculares lisas vasculares ocasionando la vasoconstricción (Dumas *et al.*, 1999). Además los reductores ocasionaron despolarización, inhibición de canales Kv y constricción en el tejido vascular pulmonar, mientras que los oxidantes han tenido el

efecto contrario (Reeve *et al.*, 1995). Otros autores afirman que la hipoxia ocasiona en la mitocondria un aumento de la producción de las ROS (Waypa *et al.*, 2001).

Las ROS pueden ser generadas por el sistema NAD(P)H oxidasa, la xantino oxidasa, la óxido nítrico sintetasa o la cadena de transporte electrónico mitocondrial (Warnholtz *et al.*, 2002; Sham, 2002). Además del superóxido, la mitocondria también produce óxido nítrico (ON) y anhídrido carbónico (CO₂); por lo tanto, la estimulación de la producción del superóxido por condiciones hipóxicas puede llevar a la formación de especies reactivas de Nitrógeno (RNS) tales como el peroxinitrito (ONOO⁻) y la nitrosoperoxocarboxilato (ONOOCO₂⁻), que son productos de la reacción del ON con el superóxido y del ON con el CO₂ respectivamente, todo esto puede llevar a una mayor disfunción mitocondrial y por lo tanto endotelial a través de la oxidación secundaria y la nitración (Ballinger *et al.*, 2000).

Bajo condiciones hipóxicas el superóxido es formado a partir de la ubisemiquinona del complejo III (Chandel *et al.*, 2000), que es un complejo que ya produce superóxido bajo condiciones normóxicas. La ubisemiquinona es un radical libre que se ha demostrado que transfiere un electrón al oxígeno molecular produciendo superóxido (Warnholtz *et al.*, 2002).

Se sugiere que la mitocondria podría ser el sensor de la VPH a través de la disminución del estado energético. Se demostró que la inhibición del transporte electrónico causó vasoconstricción pulmonar durante la normoxia; sin embargo, el estado energético no disminuyó durante la VPH en pulmones aislados o en la contracción hipóxica sostenida en cultivos de arterias pulmonares; por lo tanto, es más probable que los cambios en el estado energético influyan en la modulación de la VPH que en la activación de la respuesta (Sylvester, 2001).

En los bovinos la capa media de las arterias pulmonares está constituida por células musculares lisas fenotípicamente heterogéneas, con capacidades proliferativas marcadamente diferentes en respuesta a mitógenos y a la hipoxia; sin embargo, se conoce muy poco acerca del fenotipo de las células musculares lisas de las arterias pulmonares

distales, particularmente en aquellas que regulan la circulación pulmonar (Stiebellehner *et al.*, 2003).

En el endotelio actúan localmente sustancias vasoconstrictoras como son las prostaglandinas (PGs), tromboxanos, y la endotelina 1. Muchas de las PGs son producidas en el endotelio y metabolizadas *in situ*. El metabolismo del ácido araquidónico (AA) en el pulmón está dado principalmente por las enzimas ciclooxigenasas (COX) y lipooxigenasas (LO), los cuales son generadores de una gran variedad de eicosanoides, dentro de los cuales tenemos las prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos que regulan el tono vascular (Dennis, 2000; Serhan y Oliw, 2001).

La ciclooxigenasa (COX) es la enzima que cataliza los pasos comprometidos en el metabolismo del AA hasta la formación de las prostaglandinas, tales como la prostaglandina D₂ (PGD₂), prostaglandina E₂ (PGE₂), prostaglandina I₂ o prostaciclina (PGI₂), la prostaglandina F₂á (PGF₂á) y los tromboxanos. Estos dos últimos tienen efectos vasoconstrictores (Adams, 1988; Meade *et al.*, 1996; Smith *et al.*, 1996). La liberación del AA a partir de los fosfolípidos de la membrana es mediada por la enzima fosfolipasa A₂ (PLA₂), siendo la PLA₂ citosólica la más relacionada a la VPH (Fujishima *et al.*, 1999; Ichinose *et al.*, 2002).

El efecto vasodilatador de las PGs es debido al aumento de la adenosina monofosfato cíclico (AMPC) en el citosol, mientras que el efecto vasoconstrictor de las PGs se debe a la disminución del AMPC (Haroun *et al.*, 2004).

En los mamíferos se conocen dos isoformas de la COX: la COX-1 o isoforma constitutiva, la cual está presente en condiciones fisiológicas en casi todos los tejidos, aunque su expresión está aumentada en el tracto gastrointestinal, riñón, células endoteliales y plaquetas (González *et al.*, 2002) y la COX-2 o isoforma inducible, que se expresa en monocitos, macrófagos, neutrófilos y células endoteliales, como respuesta a citocinas proinflamatorias, promotores tumorales o factores de crecimiento (Smith *et al.*, 1996; Dubois *et al.*, 1998; Khan *et al.*, 1998).

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINES) compiten con el ácido araquidónico liberado en la respuesta inflamatoria para acoplarse al sitio activo en los canales enzimáticos. Los AINES, como el ketoprofeno, que es un bloqueador no específico, bloquean a la COX al ligar enlaces de hidrógeno a la arginina polar en la posición 120 (McAdam *et al.*, 2000; González *et al.*, 2002).

La hipoxia de corta duración no induce a la COX-2 en células musculares lisas de arterias pulmonares (Bradbury *et al.*, 2002); mientras que otros autores afirman que la hipoxia aguda induce la expresión genética de la COX-2 en pulmones de ratas (Chida y Voelkel, 1996). La inducción de la COX-2 por la hipoxia es modulada por el óxido nítrico, AMP_C, y por los productos de la COX en especial la prostaciclina (PGI₂) producida en el pulmón durante la hipoxia lo cual induce la expresión de la COX-2 en el pulmón a través de un mecanismo de retroalimentación positiva (Chida y Voelkel, 1996).

En la media de las arterias pulmonares en cultivos de pulmón también se observó la inducción hipóxica de la COX-2, la cual indujo el incremento en 4 a 5 veces la liberación de PGE₂, PGD₂ y PGF₂α de las células del músculo liso de la arteria pulmonar (Bradbury *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2002).

El factor de necrosis tumoral α (TNFα), la interleucina (IL) 1 y la IL-8 inducen la expresión de la COX-2 (Maloney *et al.*, 1998), la IL-1α, bradikinina (BK) y el factor de crecimiento transformante β (TGF β₁) son citocinas que inducen la expresión de la COX-2 (Bradbury *et al.*, 2002); además interfieren con la generación del AMPc ocasionados por la PGI₂ sugiriendo una regulación baja de la adenilciclase (Haroun *et al.*, 2004).

El óxido nítrico (ON) es una molécula de corta vida media y altamente difusible a través del endotelio vascular, es sintetizado endógenamente por la óxido nítrico sintetasa (NOS) (Kobzik *et al.*, 1993), la cual convierte a la L-arginina en L-citrulina y ON en presencia de oxígeno, nicotinamida adenina dinucleotidofosfato (NADPH), flavin adenina dinucleótido (FAD), flavin mononucleótido (FMN), tetrahidrobiopterina y calmodulina (Stuehr y Griffith, 1992; Andrew y Mayer, 1999; Cosentino y Lüscher, 1999).

Una vez producido el ON éste es libremente difundido y puede ingresar en la célula del músculo liso de la arteria pulmonar para activar la guanilato ciclasa y producir guanosina 3' 5' monofosfato cíclico (GMP_c). Al incrementar el GMP_c en las células del músculo liso de la arteria pulmonar se activa una kinasa sensible al GMP_c la cual fosforila un canal de K dependiente de Calcio llevando a la hiperpolarización, además se disminuye la [Ca²⁺]_c que conlleva a la vasodilatación (Hintze *et al.*, 1999; Hampl y Herget, 2000).

Se han identificado 3 tipos de NOS divididos en dos subgrupos: la constitutiva (la constitutiva endotelial (NOSe) o tipo III y la constitutiva neuronal (NOSn) o tipo I) y la inducible (NOSi) o tipo II. Las sintetasas constitutivas son dependientes del complejo Calcio-calmodulina, mientras que la sintetasa inducible se encuentra en macrófagos, es independiente del Calcio y produce grandes cantidades de ON por periodos prolongados (Stuehr y Griffith, 1992; Kobzik *et al.*, 1993).

Hay diferencias en los resultados si ante un desafío hipóxico agudo hay un aumento o disminución de la liberación del ON (Dumas *et al.*, 1994; Fike *et al.*, 1998). Actualmente la mayor cantidad de estudios está focalizado en la regulación del NOS. La ausencia del NOSe o tipo III ha sido asociada a una leve hipertensión pulmonar en ratones normóxicos, sugiriendo que el ON liberado podría participar en el bajo tono de la circulación pulmonar durante la normoxia (Steudel *et al.*, 1997). En una hipoxia crónica moderada la hipertensión pulmonar fue más severa en ratones deficientes de NOSe (Steudel *et al.*, 1998), sin embargo cuando la hipoxia es muy severa el NOSe no es fisiológicamente efectivo (Fagan *et al.*, 1998) y existe un incremento de la expresión de NOSi o tipo II (Raffestin *et al.*, 2002).

Los efectos vasculoprotectores de las hormonas sexuales, principalmente de los estrógenos, han sido atribuidas a su capacidad para incrementar la biodisponibilidad del ON mediante la activación del NOSe o tipo III (Hodgin *et al.*, 2002).

La endotelina 1 (ET-1) es un péptido vasoconstrictor que incrementa la presión arterial, éste se forma a partir del procesamiento de la preendotelina-1 a Big-ET-1 por

una enzima convertasa de furina. La Big-ET-1 (38 aminoácidos) es transformada a ET-1 por la enzima convertidora de endotelina (ECE) que está asociado a la membrana. La ECE-1 es una enzima que está ubicada en la membrana de las células endoteliales (Pernow *et al.*, 1996; Sugden y Bogoyevitch, 1996).

El efecto vascular de la ET-1 es mediada por 2 subtipos de receptores: ET_A y ET_B (Mizuguchi *et al.*, 1997). El receptor ET_A está localizado en las células musculares lisas vasculares y produce vasoconstricción, mientras que el receptor ET_B, está localizado en la célula endotelial vascular, cuya activación resulta en vasodilatación por la liberación de mediadores derivados del endotelio tales como el ON y la prostaciclina (Verhaar *et al.*, 1998). El receptor ET_B también está presente en las células musculares lisas vasculares y media la vasoconstricción (Haynes *et al.*, 1995).

En la hipoxia se ha encontrado un incremento de los niveles plasmáticos de la ET-1 y del ARNm de la preproendotelina-1 (Earley *et al.*, 2002). La ET-1 es un potente mediador que contribuye al desarrollo de la hipertensión pulmonar crónica (Eddahibi *et al.*, 1995) además por sus propiedades mitogénicas (Hassoun *et al.*, 1992); sin embargo, es improbable que la ET-1 sea responsable de la VPH aguda, ya que el tiempo de curso de la respuesta a la hipoxia es rápida y fácilmente reversible, mientras que la síntesis de ET-1 que no es preformada es relativamente lento (Barnes, 1994; Celermajer, 1997).

Los miocitos de las arterias pulmonares requieren de la liberación basal de ET-1 para una activación previa, que puede incluir un incremento en la sensibilidad de los filamentos al Calcio y la parcial despolarización del potencial de membrana en reposo. Aunque el grado y los mediadores de la activación pueden variar con las especies. La constante inhibición de la VPH por antagonistas de los receptores de la ET-1 en animales intactos sugiere que la ET-1 juega un importante rol fisiológico (Sylvester *et al.*, 2001).

Debido a la exposición a la hipoxia y a la altura, los mamíferos manifiestan un aumento en la producción de eritropoyetina (EPO) por las células intersticiales

peritubulares renales, que tiene por función activar la masa de los glóbulos rojos y la concentración de hemoglobina (Ebert y Bunn, 1999; Ge *et al.*, 2002).

La policitemia es un mecanismo compensatorio para mantener el reparto de oxígeno durante la permanencia en la altura, pero cuando es excesiva, se asocia con la enfermedad del mal de altura. Después de la exposición a la altura, hay un aumento en el hematocrito, sin embargo hay considerables variaciones individuales, probablemente relacionados a la presión de oxígeno en el parénquima renal, al igual que otros factores con la regulación transcripcional de la EPO por la hipoxia en el tejido renal (Ou *et al.*, 1998; Ge *et al.*, 2002).

Luego de la liberación de la EPO, la policitemia debería aumentar la oxigenación del tejido renal y reducir la síntesis de la EPO; sin embargo, los cambios en los niveles de la EPO, la oxigenación del tejido renal y el hematocrito no están bien correlacionados con el tiempo (Ou *et al.*, 1998; Fisher, 2003).

Con valores elevados de hematocrito, se incrementa la viscosidad sanguínea, hasta tal punto que el flujo de sangre a los tejidos se compromete (Ebert y Bunn, 1999). Un severo incremento del número de glóbulos rojos, se asocia frecuentemente con la hipertensión arterial, resultando en complicaciones cardiovasculares severas. Sin embargo, algunos individuos tales como los que residen en las alturas, compensan bien el incremento de su hematocrito (Vogel *et al.*, 2003).

La hipoxia en general lleva a la liberación de citocinas inflamatorias desde las células endoteliales tales como IL-1, IL-6, IL-8 y TNF α . La IL-6 está referida al incremento de la permeabilidad de la célula endotelial (Warnholtz *et al.*, 2002; Pearlstein *et al.*, 2002).

En macrófagos alveolares humanos el ON disminuye la producción de citocinas inflamatorias, incluyendo a la IL-1 β , TNF α y a la proteína inflamatoria de macrófago 1. El mecanismo por el cual regula esta producción de citocinas es a través de la disminución de la regulación del factor nuclear κ B (NF κ B), que es un factor de transcripción sensible a potencial redox que controla su expresión (Raychaudhuri *et al.*, 1999). Un mecanismo por

el cual bloquea la producción del NF- κ B es a través de la proteína inhibidora I κ B α (Raychaudhuri *et al.*, 1999).

El oxígeno es esencial para la vida de todos los organismos aeróbicos. El factor clave para la adaptación a la reducida disponibilidad de oxígeno es la transcripción del factor inducido por la hipoxia 1 (HIF-1), compuesto de las subunidades redox-sensible HIF-1 α y la expresada constitutivamente HIF-1 β (Sandau *et al.*, 2001).

La subunidad HIF-1 α es degradado por la vía proteosomal durante la normoxia, pero es estabilizada bajo condiciones hipóxicas (Wenger, 2000; Sandau *et al.*, 2001; Agani *et al.*, 2002). La proteína Von Hippel Landau (pVHL) media la rápida ubiquitinación y la rápida degradación del HIF- α (incluyendo HIF-1 α y el HIF-2 α). La hidroxilación postranscripcional de un residuo de prolina en el dominio de la degradación dependiente de oxígeno del HIF- α se requiere para la interacción entre el HIF y pVHL (Yuan *et al.*, 2003).

Se han identificado a las enzimas prolil y aspargil hidroxilasas como las que durante la normoxia median la rápida degradación de las proteínas HIF α (Ivan *et al.*, 2001; Jaakkola *et al.*, 2001; Lando *et al.*, 2003).

La regulación del HIF α es compleja e involucra múltiples mecanismos de control a nivel de degradación proteica y por lo tanto la estabilización proteica, traslocación nuclear y activación transcripcional (Bilton y Booker, 2003). Cuando se estimula por la hipoxia estos mecanismos se combinan sinérgicamente para inducir una activación máxima del HIF y se ha demostrado que regula la transcripción de por lo menos 40 genes, incluyendo enzimas glicolíticas, transportadores de glucosa y factores de crecimiento endotelial (Semenza, 2001a).

La activación del HIF-1 es inducido no solamente por la hipoxia sino también por citocinas inflamatorias tales como la IL-1 β y el TNF- α . En consecuencia, el HIF-1 puede jugar un rol importante no solamente en la homeostasis del oxígeno y la energía sino también en la respuesta inmune (Hellwig-Bürgel *et al.*, 1999).

Otros factores mediados por receptores que estimulan comúnmente al HIF- α incluyen a la angiotensina II y trombina (Gorlach *et al.*, 2001). Otro estímulo del HIF- α incluye la señalización de intermediadores tales como el óxido nítrico (ON) (Sandau *et al.*, 2000; Sheta *et al.*, 2001).

Las vías de la MAPk (mitógeno activador de proteína kinasa) y Akt (proteína quinasa B o serina/treonina kinasa) pueden cooperar para activar la inducción de la actividad del HIF α (Zundel *et al.*, 2000; Minet *et al.*, 2000).

Hay cierta evidencia para sugerir que la cooperación de estas vías de kinasas con la hipoxia puede ocurrir a través de la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) en medios hipóxicos como un paso intermediario (Huang *et al.*, 1996; Semenza, 2001b). En esta vía las ROS, pueden entonces reclutar las vías MAPk o Akt para activar vía HIF α la activación independiente de ligandos de varios receptores de factores de crecimiento tales como el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGF) (Huang *et al.*, 1996). En hipoxia la transcripción de la ET-1 está regulada por el HIF-1 (Hu *et al.*, 1998; Yamashita *et al.*, 2001).

El 17 β estradiol inhibe la expresión genética de la ET-1 inducida por la hipoxia debido a que interfiere con la actividad del HIF, probablemente a través de la competición por cantidades limitadas de CBP/p300 (Earley y Resta, 2002).

La transcripción del gen de la EPO, es regulada por el HIF-1 (Tarumoto *et al.*, 2000; Wenger, 2002). Hay una secuencia dentro del gen de la EPO que le confiere sensibilidad a la hipoxia, esta área contiene una secuencia de 8 pares de bases (5'- TACGTGCT - 3') que permite unirse al HIF-1 (Brij y Peacock, 1998).

La tensión de oxígeno en el riñón es heterogénea, los cambios de tensión pueden jugar un rol importante en procesos fisiológicos y patofisiológicos. El riñón tiene una gran capacidad reguladora de HIF, pero la expresión del HIF-1 α y HIF-2 α es selectiva con respecto al tipo de célula y zona de riñón; sin embargo, la expresión del HIF-2 α en las

células peritubulares renales, sugiere un rol para la regulación de la EPO (Rosenberger *et al.*, 2002).

En la hipoxia prolongada la remodelación vascular es una respuesta al incremento de la presión hidrostática y al efecto directo de la hipoxia por varios genes (ET-1, NOS, factores de crecimiento y otros) (Voelkel y Tuder, 1997).

Como ya se dijo la hipoxia induce el aumento de $[Ca^{2+}]_c$ que acompañado de otros mecanismos como PkC (Weissmann *et al.*, 1999) y tirosina kinasa (Uzun *et al.*, 1998) activan además a las MAPk, las cuales pueden estar involucradas en la respuesta proliferativa y a la remodelación que ocurre en las 3 capas de la pared vascular en respuesta a la hipoxia (Brij y Peacock, 1998; Conrad *et al.*, 2000).

El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) juega un rol importante en la angiogénesis (Ferrara y Davis-Smyth, 1997). Las células endoteliales no expresan VEGF bajo normoxia, sino en exposición a la hipoxia, los niveles de ARNm del VEGF están incrementados dramáticamente dentro de unas pocas horas de exposición (Liu *et al.*, 1995). En pulmones de ratas se incrementa la expresión del VEGF-A y de los receptores VEGFR-1 y VEGFR-2 cuando son sometidos a hipoxia crónica (Christou *et al.*, 1998).

La inducción de la COX-2 puede contribuir a la inhibición de la remodelación vascular pulmonar inducida por la hipoxia (Yang *et al.*, 2002). La producción de prostaglandinas (PG) actúan como un mecanismo de retroalimentación negativa, debido a que la PGE2 y PGI2 son potentes vasodilatadores e inhibidores de la remodelación vascular (Bishop-Bailey *et al.*, 1999; Wen *et al.*, 1998). Así mismo el ON también posee propiedades antimitogénicas sobre las células musculares lisas (Roberts *et al.*, 1995). La serotonina estimula la síntesis de DNA del músculo liso y proliferación de la arteria pulmonar bovina (Lee *et al.*, 1994).

Especies tales como el bovino y el cerdo presentan una mayor vasoconstricción en hipoxia aguda y cuando son sometidos a hipoxia crónica presentan una mayor

remodelación vascular pulmonar; sin embargo, hay excepciones para estos descubrimientos, el coati, otra especie con poderosa respuesta presora a la hipoxia aguda, no desarrolla remodelación vascular pulmonar cuando es expuesto a la altura por 6 semanas (Hanson *et al.*, 2000).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Área de estudio:

El presente estudio se realizó en la Estación Experimental del Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura (IVITA) - El Mantaro, provincia de Jauja, departamento de Junín, a una altura de 3 320 m.s.n.m. y una presión barométrica de 510 mmHg con una presión parcial de oxígeno de 107 mmHg; y en el Laboratorio de Fisiología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos a 160 m.s.n.m. con una presión barométrica de 750 mmHg y una presión parcial de oxígeno de 157 mmHg.

3.2. Animales:

Para este estudio se utilizaron 10 terneros machos de la raza Jersey comprendidos entre 1 y 2 meses de edad, nacidos a nivel del mar y trasladados a la altura, divididos en dos grupos:

Grupo 1: Control.

Grupo 2: Tratamiento con ketoprofeno.

La alimentación de los animales fue a base de leche, concentrado y forraje tanto a nivel del mar y en la altura.

3.3. Materiales:

3.3.1. Equipo de medición

- 01 polígrafo Hewlett Packard modelo 8855B.
- 01 transductor de presión modelo 167AC.
- Papel de registro.
- Catéteres de 1.80m. de longitud N°P90.

3.3.2. Material de laboratorio

- Ketoprofeno al 10% (Solución hidroalcohólica).
- Abocat N° 14 de 1,5 ''.
- Jeringas de vidrio de 20 ml.
- Jeringas de vidrio de 10 ml.
- Cloruro de sodio al 0.9 %.
- Heparina sódica.
- Manómetro de Mercurio.
- Yodo.
- Gasa.
- Algodón.
- Alcohol de 96°.
- Agujas descartables N° 21, 18 y 16 x 1,5''.
- Agua destilada.
- Bandejas.
- Riñoneras.
- Algodonera.

3.3.3. Material accesorio

- Barra de jabón carbólico.
- Hojas de afeitar.
- Brete.

- Sogas de 1,5 pulgadas por 8 cm.
- Baldes.
- Lavatorios.
- 01 termómetro rectal.
- 01 estetoscopio.
- Masking tape.
- Cuaderno de campo.

3.4. Métodos:

3.4.1. Calibración del equipo de medición (Fisiógrafo)

La preparación se inició con el ajuste de los controles del amplificador 8805B de acuerdo al manual de calibración. Se conectó el transductor al canal de medición de presión y se procedió a determinar el rango de presión deseada, que para la presión arterial es de -25 a +225 mmHg, con el equivalente a 5 mmHg por cada división del papel de registro.

Se ajustó la aguja inscriptora en 5 divisiones de papel del extremo derecho. Seguidamente se conectó el manómetro de Mercurio a una de las salidas del transductor bloqueando las demás salidas. Se ajustó el amplificador de tal manera que el papel de registro marcaba el equivalente a 200 mmHg de presión otorgado por el manómetro de Mercurio, una vez retirado el manómetro de mercurio se tuvo el amplificador calibrado al registrador.

3.4.2. Preparación de animales

A los animales, tanto a nivel del mar como en la altura se les tomó las constantes fisiológicas previo acostumbramiento del animal, para luego ubicarlos en un brete de manejo, luego se procedió al afeitado de pelo del tercio medio de la zona del cuello a la altura de la vena yugular.

3.4.3. Cateterismo cardiaco

Se realizó en condiciones asépticas y con una cánula abocat N° 14 de 1,5 pulgadas introducida por venipuntura en una vena yugular distendida derecha o izquierda, de allí se introdujo un catéter P90 estéril conteniendo una solución fisiológica heparinizada en

dirección al corazón hasta que las fluctuaciones de presión venosa se hicieron visibles en el aparato de medición (en ese momento se encuentra en la entrada de la vena cava craneal en la aurícula derecha). Se avanzó hacia el ventrículo derecho y luego a la arteria pulmonar donde la amplitud de estas fluctuaciones disminuyeron y la curva que se observó en el papel de registro coincidió con la curva característica de la arteria pulmonar (onda dicrotíca).

3.4.4. Método experimental

A nivel del mar el grupo Control (5 animales) recibió placebo mientras que al grupo Tratamiento (5 animales) se le aplicó ketoprofeno a dosis de 3mg/kg de peso vivo, vía intramuscular por 5 días consecutivos. Al quinto día de tratamiento, es decir, finalizado el tratamiento, se midió la presión arterial pulmonar media (PAPm) a todos los animales, mediante la técnica del cateterismo cardiaco.

Al séptimo día de iniciado el tratamiento los animales fueron transportados a la altura (3 320 m.s.n.m.), considerándose este día como el primer día de exposición a la altura. Al tercer día de exposición a la altura, se realizó nuevamente la medición de la PAPm a los animales.

La frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria y temperatura corporal, también se determinaron al quinto día del tratamiento a nivel del mar y al tercer día de exposición a la altura.

3.5 Método estadístico:

La variable de la presión arterial pulmonar media (PAPm) se analizó mediante la prueba estadística de Análisis de Varianza para evaluar si existe diferencia estadística por el efecto del tratamiento con ketoprofeno.

La frecuencia cardiaca y frecuencia respiratoria se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Walsh y la temperatura corporal se analizó mediante la prueba paramétrica t para evaluar si existe diferencia estadística entre los animales a nivel del mar y al tercer día de exposición a la altura.

IV. RESULTADOS

La PAPm del grupo control a nivel del mar fue de $19,00 \pm 0,94$ mmHg comparado con el grupo tratamiento que fue de $21,00 \pm 3,39$ mmHg. En estos resultados no existe diferencia estadística significativa ($p > 0,05$) por el efecto del tratamiento con ketoprofeno (Cuadro N° 1, Apéndice N° 1 y N° 2).

La PAPm del grupo control al tercer día de exposición a la altura fue de $39,50 \pm 6,00$ mmHg, comparado con el grupo tratamiento que llegó a $31,25 \pm 5,70$ mmHg. En estos resultados no existe diferencia estadística significativa ($p > 0,05$) por el efecto del tratamiento del ketoprofeno; sin embargo, la PAPm tuvo una tendencia a la disminución en el grupo tratado (Cuadro N° 1).

Al no encontrar diferencia por el efecto del tratamiento con ketoprofeno, la PAPm se analizó tomando ambos grupos en conjunto. Los resultados fueron los siguientes: A nivel del mar $20,00 \pm 2,68$ mmHg, mientras que al tercer día de exposición a la altura $35,28 \pm 7,16$ mmHg encontrándose diferencia estadística significativa ($p < 0,05$) por efecto de la altura. La PAPm se elevó en la altura en un 56.7% (Cuadro N° 2).

Animales tratados con ketoprofeno no fueron diferentes ($p > 0,05$) a los animales control con relación a la frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria y temperatura corporal (Cuadro N° 3), por lo que estos valores se analizaron en conjunto. Los valores promedio de

las constantes fisiológicas a nivel del mar fueron: frecuencia cardiaca 99,4/minuto; frecuencia respiratoria 40,6/minuto y temperatura corporal $38,84 \pm 0,38$ °C; mientras que al tercer día de exposición a la altura fueron: frecuencia cardiaca 121,00/minuto; frecuencia respiratoria 47,60/minuto y temperatura corporal $39,17 \pm 0,51$ °C. En estos resultados solamente la frecuencia cardiaca aumentó significativamente ($p < 0,05$) en los animales expuestos a la altura (Cuadro N° 4).

Cuadro N° 1: PAPm (mmHg) en terneros Jersey de los grupos control y tratados con ketoprofeno a nivel del mar y al tercer día de exposición a la altura.

	n	Lima (nivel del mar) (X ± IC)	Altura (tercer día de exposición) (X ± IC)
CONTROL	5	19,00 ± 0,94	39,50 ± 6,00
TRATAMIENTO	5	21,00 ± 3,39	31,25 ± 5,70

X ± IC : Promedio ± Intervalo de confianza.

Cuadro N° 2: PAPm (mmHg) en terneros Jersey a nivel del mar y al tercer día de exposición a la altura.

	N	Lima (nivel del mar) (X ± IC)	Altura (tercer día de exposición) (X ± IC)	Variación (%)
TOTAL	10	20,00 ± 2,68^a	35,28 ± 7,16^b	56.7

X ± IC : Promedio ± Intervalo de confianza.

a , b : Letras diferentes, diferencias estadísticas de significancia (p 0.05).

Cuadro N° 3: Frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria y temperatura en terneros Jersey de los grupos control y tratados con ketoprofeno, a nivel del mar y al tercer día de exposición a la altura.

	Lima (nivel del mar) (X ± IC)		Altura (3^{er} día de exposición) (X ± IC)	
	Control	Tratamiento	Control	Tratamiento
Constantes Fisiológicas				
FC	91,6	107,6	115,2	126,8
FR	35,6	45,6	50,4	44,8
T	38,82 ± 0,19	38,86 ± 0,49	39,06 ± 0,21	39,28 ± 0,68

X ± IC : Promedio ± Intervalo de confianza.

FC: frecuencia cardiaca (latidos/minuto)

FR: frecuencia respiratoria (respiraciones/minuto)

T: temperatura (°C)

Cuadro N° 4: Frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria y temperatura en terneros Jersey a nivel del mar y al tercer día de exposición a la altura.

Constantes Fisiológicas	Lima (nivel del mar) (X ± IC)	Altura (3^{er} día de exposición) (X ± IC)
FC	99,40^a	121,00^b
FR	40,60	47,60
T	38,84 ± 0,38	39,17 ± 0,51

X ± IC : Promedio ± Intervalo de confianza.

a , b : Letras diferentes, diferencias estadísticas de significancia (p 0.05).

FC: frecuencia cardiaca (latidos/minuto)

FR: frecuencia respiratoria (respiraciones/minuto)

T: temperatura (°C)

V. DISCUSIÓN

En el Cuadro N° 1 se observó que los valores promedio de PAPm a nivel del mar en terneros Jersey machos no fueron diferentes ($p > 0,05$) entre el grupo control y el tratado con ketoprofeno. El ketoprofeno es un antiinflamatorio no esteroideo, bloqueador inespecífico de la enzima ciclooxigenasa. Esta enzima es la responsable de catalizar los pasos comprometidos en el metabolismo del ácido araquidónico liberado en la respuesta inflamatoria a partir de los fosfolípidos de la membrana celular por la acción de la enzima Fosfolipasa A2 hasta la formación de prostaglandinas y tromboxanos (Adams, 1988; Meade *et al.*, 1996; Smith *et al.*, 1996; Fujishima *et al.*, 1999; Ichinose *et al.*, 2002).

Al tercer día de exposición a la altura (Cuadro N° 1), el aumento observado en la PAPm de los animales tratados con ketoprofeno tienden a ser menores que los de los animales control, pero, no fueron estadísticamente significativos ($p > 0,05$). El tratamiento con ketoprofeno en terneros Jersey expuestos a hipoxia ambiental de 3 320 m.s.n.m. al parecer no tuvo gran efecto sobre la PAPm ya que no previno la presentación de la vasoconstricción arterial pulmonar, efecto que ejerce las prostaglandinas y tromboxanos (Bradbury *et al.*, 2002; González *et al.*, 2002).

La hipoxia induce el incremento de la liberación de prostaglandinas (PGs) de las células musculares lisas de las arterias pulmonares como son las PGE2, PGD2 y la prostaglandina F2á (PGF2á), siendo esta última un potente vasoconstrictor (Smith *et al.*, 1996; Bradbury *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2002). El efecto vasoconstrictor lo logra por una

disminución del AMPc que ocasiona un aumento de la concentración Calcio intracelular (Haroun *et al.*, 2004).

En todos los animales en estudio la PAPm se elevó en forma significativa ($P < 0.05$) por efecto de la altura (Cuadro N° 2), similares a las encontradas en otras especies (Will *et al.*, 1975; Tucker *et al.*, 1975; Ayón *et al.*, 1979), debido a que la elevación de la PAP es causado inicialmente por la vasoconstricción de las arteriolas pulmonares distales ocasionado por la baja presión de oxígeno y el frío que son características de las zonas de altura (Chauca y Bligh, 1976; Ayón y Cueva, 1998; Sylvester, 2001).

Esta vasoconstricción pulmonar hipóxica es rápida, inicialmente se debe a la liberación de sustancias vasoactivas como son las prostaglandinas, tromboxanos, los mismos niveles *per se* de oxígeno, el estado redox, que lleva a la inhibición del flujo de K^+ a través de receptores de membrana celular operados por voltaje o ligando, ocasionando la despolarización, que aumenta la actividad de la Fosfolipasa C que vía proteínas G cataliza lípidos de la membrana celular (PIP_2) para la formación de diacilglicerol e IP_3 que se unen a receptores específicos del retículo sarcoplásmico y membrana celular aumentando la concentración de Calcio intracelular que unido a la calmodulina activa a la MLC kinasa fosforilando a la miosina para que interactúe con la actina e inicie la contracción muscular. Para la contracción muscular del músculo liso es necesario un mecanismo de sensibilización que consiste en la inhibición de la enzima MLCfosfatasa por la enzima Rho kinasa (Peers, 1997; Dumas *et al.*, 1999; Sylvester, 2001; Webb, 2003). Estas afirmaciones se sustentan ya que se ha demostrado que la VPH aguda y crónica se atenúa por inhibición de la Rho kinasa (Fagan *et al.*, 2004).

Cuando la exposición a la hipoxia ambiental es de mayor duración, otras sustancias vasoactivas toman mayor rol como las endotelinas-1 ya que su síntesis es relativamente lento y no se encuentra preformada (Barnes, 1994; Celermajer, 1997). La ET-1 actúa a través de la unión con sus receptores en la membrana celular del músculo liso que activa los mecanismos para la contracción muscular; además la ET-1 está involucrada en los procesos mitogénicos vía PkC activan MAPk que intervienen en la muscularización vascular y

refuerzan la hipertensión pulmonar (Hassoun *et al.*, 1992; Brij y Peacock, 1998; Weissmann *et al.*, 1999; Yang *et al.*, 2002).

La hipoxia en el músculo liso arterial disminuye la síntesis de GMPc lo que limitaría la respuesta vasodilatadora del ON (Hassoun *et al.*, 2004). La hipoxia induce la liberación de citocinas inflamatorias desde la célula endotelial tales como IL-1, IL-1 α , IL-6, IL-8 y TNF α , estando algunas de ellas como la IL-1 α , TNF α , factores de crecimiento, ON y ROS en la activación del HIF-1 (Huang *et al.*, 1996; Hellwig – Bürgel *et al.*, 1999; Pearlstein *et al.*, 2002; Warnholtz *et al.*, 2002) sobre las cuales el ketoprofeno no interviene directamente.

Los valores PAPm obtenidos en la altura (Cuadro N° 2) están elevados y similares a los obtenidos por Tucker *et al* (1975) y Will *et al* (1975). Para Ames (2001) estos valores de PAPm están dentro del rango aceptable para introducir ganado bovino en la altura (PAPm < 41 mmHg) pudiendo considerarse como un buen indicador. Los valores de la PAPm en bovinos de la raza Holstein y Brown Swiss de 4 a 8 meses de edad encontrados por Ocampo (1997) fueron de $58,75 \pm 8,93$ mmHg y $45,00 \pm 8,66$ mmHg respectivamente, los cuales son mayores a los encontrados en el presente estudio en bovinos Jersey ($35,38 \pm 7,16$ mmHg). Todo esto nos puede sugerir una mejor respuesta a cuadros hipóxicos, pero hay que tener en cuenta aspectos como procedencia, edad y susceptibilidad.

El aumento de la frecuencia cardiaca observada en la altura (Cuadro N° 4) está relacionado con el incremento del flujo sanguíneo y el gasto cardiaco a fin de mantener la tensión de oxígeno arterial y asegurar una adecuada oxigenación tisular. Este aumento en la frecuencia cardiaca se relaciona al incremento de la actividad simpática que actúa a nivel de receptores α -adrenérgicos que aumentan la actividad cardiaca, y a la estimulación de quimiorreceptores y barorreceptores arteriales periféricos tales como el seno carotídeo y cuerpo carotídeo. La frecuencia respiratoria no aumentó significativamente ($p>0,05$) pudiendo ser a que las demandas de oxígeno tisular son compensadas con el aumento de la actividad cardiaca (Tovar, 1995; Brij y Peacock, 1998; Mazzeo *et al.*, 1998). La temperatura corporal tampoco se incrementó ($p>0,05$) y son similares a las reportadas en otros estudios (Peña *et al.*, 1992).

VI. CONCLUSIONES

- El tratamiento con ketoprofeno en los terneros Jersey no influyó significativamente ($p > 0.05$) en los valores de la PAPm a nivel del mar y a los tres días de exposición a la altura.
- La exposición de los terneros Jersey a la hipoxia de la altura por 3 días incrementó ($p < 0.05$) el valor promedio de la PAPm de $20,00 \pm 2,68$ mmHg a nivel del mar a $35,28 \pm 7,16$ mmHg en la altura; constituyendo este incremento el 56,7%.
- La exposición de los terneros Jersey a la hipoxia de la altura por 3 días aumentó ($p < 0.05$) el valor promedio de la frecuencia cardiaca de 99,40 latidos/minuto a nivel del mar a 121,00 latidos/minuto en la altura.

VIII. LITERATURA CITADA

1. Adams, R.H. 1988. Prostaglandinas. In: Booth N.H. y L.E. McDonald. Eds. Farmacología y terapéutica veterinaria. 5° ed. Zaragoza (España) Editorial Acribia S.A.:453-462.
2. Agani, F.H.; M. Puchowicz; J.C. Chavez; P. Pichiule y J. LaManna. 2002. Role of nitric oxide in the regulation of HIF-1 α expression during hypoxia. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 283(1):C178-C186.
3. Alexander, A.F.; D.H. Will y J.T. Reeves. 1960. Pulmonary hypertension and right ventricular hypertrophy in cattle at high altitude. *Am. J. Vet. Res.*, 21:199-204.
4. Ames, D.R. 2001. Guide for using pulmonary artery pressure (PAP) for beef cattle. Animal Sciences Research Report, 1-3.
5. Andrew, P.J. y B. Mayer. 1999. Enzymatic function of nitric oxide synthases. *Cardiovasc. Res.*, 43:521-531.
6. Archer, S. y E. Michelakis. 2002. The mechanism(s) of hypoxic pulmonary vasoconstriction: Potassium channels, redox O₂ sensors, and controversies. *News Physiol. Sci.*, 17:131-137.
7. Archer, S.L.; E.K. Weir; H.L. Reeve y E. Michelakis. 2000. Molecular identification of O₂ sensors and O₂-sensitive potassium channels in the pulmonary circulation. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 475:219-240.
8. Archer, S.L.; E. Souil; A.T. Dinh-Xuan; B. Schremmer; J.C. Mercier; A. El Yaagoubi; L. Nguyen-Huu; H.L. Reeve y V. Hampl. 1998. Molecular identification of the role of voltage-gated K⁺ channels, kv1.5 and Kv2.1, in hypoxic pulmonary

- vasoconstriction and control of resting membrane potential in rat pulmonary artery myocytes. *J. Clin. Invest.*, 101:2319-2330.
9. Asociación Colombiana de Criadores de Ganado Jersey (Aso-Jersey). 2001. El ganado Jersey. *Bol. Bolsa Ganadera*, Bogotá.
 10. Ayón, M. y S. Cueva. 1998. Adaptación del ganado bovino a la altura. Pub. Téc. No. 38. *Fac. Med. Vet. Univ. Nac. Mayor de San Marcos*, Lima, 15p.
 11. Ayón, M.; D. Chauca; S. Cueva y L. Llerena. Modalidad de crianza e incidencia de mal de altura en vacunos. Resum. 12^a Reunión Cient. Anu. Asoc. Peruana Prod. Anim., Lima, 1989:3.
 12. Ayón, M.; A. Valenzuela y A.H. Sillau. 1979. Insuficiencia cardiaca congestiva en aves criadas en altura (mal de altura) y su relación con la hipertensión arterial pulmonar por hipoxia. In: *An. VI Cong. Latinoam. Avicultura*. Lima, 130-136.
 13. Ballinger, S.W.; C. Patterson; C.N. Yan; R. Doan; D.L. Burow; C. G. Young; F. M. Yakes; B. Van Houten; C.A. Ballinger; B.A. Freeman y M.S. Runge. 2000. Hydrogen peroxide and peroxynitrite induced mitochondrial DNA damage and dysfunction in vascular endothelial and smooth muscle cells. *Circ. Res.*, 86:960-966.
 14. Barnes, P.J. 1994. Endothelins and pulmonary diseases. *J. Appl. Physiol.*, 77:1051-1059.
 15. Bennie, R.E.; C.S. Packer; D.R. Powell; N. Jin y R.A. Rhoades. 1991. Biphasic contractile response of pulmonary artery to hypoxia. *Am. J. Physiol.*, 263:L156-L163.
 16. Bilton, R.L. y G.W. Booker. 2003. The subtle side to hypoxia inducible factor (HIF)- α regulation. *Eur. J. Biochem.*, 270(5):791-798.
 17. Bishop-Bailey, D.; T. Hla y J.A. Mitchell. 1999. Cyclooxygenase-2 in vascular smooth muscle. *Int. J. Mol. Med.*, 3:41-48.
 18. Bradbury, D.A.; R. Newton; Y.M. Zhu; J. Stocks; L. Corbett; E.D. Holland; L.H. Pang y A.J. Knox. 2002. Effect of bradykinin, TGF- β 1, IL-1 β and hypoxia on COX-2 expression in pulmonary artery smooth muscle cells. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 283:L717-L725.
 19. Brij, S.O. y A.J. Peacock. 1998. Cellular responses to hypoxia in the pulmonary circulation. *Thorax*, 53:1075-1079.

20. Celermajer, D.S. 1997. Endothelial dysfunction: Does it matter? Is it reversible?. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 30:325-333.
21. Chandel, N.S.; D.S. McClintock; C.E. Feliciano; T.M. Wood; J.A. Melendez; A.M. Rodriguez y P.T. Schumacker. 2000. Reactive oxygen species generated at mitochondrial complex III stabilize hypoxia-inducible factor-1 α during hypoxia: A mechanism of O₂ sensing. *J. Biol. Chem.*, 275:25130-25138.
22. Chauca, D. y J. Bligh. 1976. Efecto aditivo del frío y la hipoxia sobre la presión arterial pulmonar de ovinos. *Res. Vet. Sci.*, 21:123-124.
23. Chida, M. y N.F. Voelkel. 1996. Effects of acute and chronic hypoxia on rat lung cyclooxygenase. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 270:L872-L878.
24. Christou, H.; A. Yoshida; V. Arthur; T. Morita y S. Kourembanas. 1998. Increased vascular endothelial growth factor production in the lungs of rats with hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 18:768-776.
25. Conrad, P.W.; D.E. Millhorn y D. Beitner-Johnson. 2000. Hypoxia differentially regulates the mitogen- and stress- activated protein kinases. Role of Ca²⁺/CaM in the activation of MAPK and p38 gamma. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 475:293-302.
26. Cosentino, F. y T.L. Lüscher. 1999. Tetrahydrobiopterin and endothelial nitric oxide synthase activity. *Cardiovasc. Res.*, 43:274-278.
27. Cueva, S. 1968. Mal de altura en bovinos: Consideraciones generales, recomendaciones. 3er. Bol. Ext. IVITA. *Univ. Nac. Mayor San Marcos*, Lima, 285-293.
28. Dennis, E.A. 2000. Phospholipase A2 in eicosanoid generation. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.*, 161(Suppl.):S32-S35.
29. Dubois, R.N.; S.B. Abramson; L. Crofford; R.A. Gupta; L.S. Simon; L.B.A. Van De Putte y P.E Lipsky. 1998. Cyclooxygenase in biology and disease. *Fed. Am. Soc. Exp. Biol. J.*, 12:1063-1073.
30. Dumas, J.P.; M. Bardou; F. Goirand y M. Dumas. 1999. Hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Genral. Pharmacol.*, 33:289-297.
31. Dumas, J.P.; M. Dumas; C. Sgro; C. Advenier y J.F. Giudicelli. 1994. Effects of two K⁺ channel openers, aprikalim and pinacidil, on hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Eur. J. Pharmacol.*, 263:17-23.

32. Earley, S.; L.D. Nelin; L.G. Chicoine y B.R. Walker. 2002. Hypoxia-induced pulmonary endothelin-1 expression is unaltered by nitric oxide. *J. Appl. Physiol.*, 92:1152-1158.
33. Earley, S. y T.C. Resta. 2002. Estradiol attenuates hypoxia-induced pulmonary endothelin-1 gene expression. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, 283:L86-L93.
34. Ebert, B.L. y H.F. Bunn. 1999. Regulation of the erythropoietin gene. *Blood*, 94(6):1864-1877.
35. Eddahibi, S.; B. Raffestin; M. Clozel; M. Levame y S. Adnot. 1995. Protection from pulmonary hypertension with an orally active endothelin receptor antagonist in hypoxic rats. *Am. J. Physiol.*, 268:H828-H835.
36. Fagan, K.A.; M. Oka; N.R. Bauer; S.A. Gebb; D.D. Ivy; K.G. Morris y I.F. McMurtry. 2004. Attenuation of acute hypoxic pulmonary vasoconstriction and hypoxic pulmonary hypertension in mice by inhibition of Rho-kinase. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 0:902003-0.
37. Fagan, K.; P. Huang; I. McMurtry y D. Rodman. 1998. Endothelial nitric oxide synthase (eNOS) deficient mice have increased sensitivity to hypoxia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 157:A588.
38. Favier, R.; H. Spielvogel; E. Caceres; A. Rodriguez; B. Sempore y J.M. Pequignot. 1997. Differential effects of ventilatory stimulation by sex hormones and almitrine on hypoxic erythrocytosis. *Pflugers Arch.*, 434(1):97-103.
39. Ferrara, N. y T. Davis-Smyth. 1997. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr. Rev.*, 18:4.
40. Fike, C.D.; M.R. Kaplowitz; C.J. Thomas y L.D. Nelin. 1998. Chronic hypoxia decreases nitric oxide production and endothelial nitric oxide synthase in newborn pig lungs. *Am. J. Physiol.*, 274:L517-L526.
41. Fisher, J.W. 2003. Erythropoietin: Physiology and pharmacology update. *Molecular Interventions.*, 2:229-243.
42. Franco-Obregon, A. y J. Lopez-Barneo. 1996a. Low P_O₂ inhibits calcium channel activity in arterial smooth muscle cells. *Am. J. Physiol.*, 271:H2290-H2299.

43. Franco-Obregon, A. y J. Lopez-Barneo. 1996b. Differential oxygen sensitivity of calcium channels in rabbit smooth muscle cells of conduit and resistance pulmonary arteries. *J. Physiol.*, 491:511-518.
44. Fujishima, H.; O.R. Sanchez; C.O. Bingham, B.K. Lam, A. Sapirstein, J.V. Bonventre, K.F. Austen y J.P. Arm. 1999. Cytosolic phospholipase A2 is essential for both the immediate and the delayed phases of eicosanoid generation in mouse bone marrow-derived mast cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 96:4803-4807.
45. Gaspar, T. 1969. Evaluación de la incidencia de mortalidad por mal de altura en vacunos en la sierra del Perú. Tesis Bachillerato. *Fac. Med. Vet. Univ. Nac. San Marcos*, Lima, 91p.
46. Ge, R.L.; S. Witkowski; Y. Zhang; C. Alfrey; M. Sivieri; T. Karlsen; G.K. Resaland; M. Harber; J. Stray-Gundersen y B.D. Levine. 2002. Determinants of erythropoietin release in response to short-term hypobaric hypoxia. *J. Appl. Physiol.*, 92:2361-2367.
47. González, P.R.; G.P. Poza; R. Vives y G. Canto. 2002. Antinflamatorios inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa-2 (COX-2). *Alergol. Inmunol. Clin.*, 17:247-254.
48. Gorlach, A.; I. Diebold; V.B. Schini-Kerth; U. Berchner-Pfannschmidt; U. Roth; R.P. Brandes; T. Kietzmann y R. Busse. 2001. Thrombin activates the hypoxia-inducible factor-1 signaling pathway in vascular smooth muscle cells: Role of the p22 (phox)-containing NADPH oxidase. *Circ. Res.*, 89:47-54.
49. Hampl, V. y J. Herget. 2000. Role of nitric oxide in the pathogenesis of chronic pulmonary hypertension. *Physiol. Rev.*, 80(4):1337-1372.
50. Hanson, W.; D. Boggs; J. Kay ; S. Hofmeister ; O. Okada y W. Wagner. 2000. Pulmonary vascular response of the coati to chronic hypoxia. *J. Appl. Physiol.*, 88:981-986.
51. Haroun, H.E.; D. Bradbury; A. Clayton y A.J. Knox. 2004. Interleukin-1 β , transforming growth factor- β ₁, and bradykinin attenuate cyclic AMP production by human pulmonary artery smooth muscle cells in response to prostacyclin analogues and prostaglandin E₂ by cyclooxygenase-2 induction and downregulation of adenylyl cyclase isoforms 1, 2, and 4. *Circ. Res.*, 94:353.

52. Harris, P. y D. Heath. 1986. Influence of respiratory gases. En: Harris, P. y D. Heath. (Eds.). *The human pulmonary circulation*, 2da. Ed. Churchill Livingstone, London, pp. 456-483.
53. Hassoun, P.M.; G. Filippov; M. Fogel; C. Donaldson; U.S. Kayyali; L.A. Shimoda y K.D Bloch. 2004. Hypoxia decreases of soluble guanylate cyclase in cultured rat pulmonary artery smooth muscle cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 30:908-913.
54. Hassoun, P.M.; V. Thappa; M.J. Landman y B.L. Fanburg. 1992. Endothelin 1: mitogenic activity on pulmonary artery smooth muscle cells and release from hypoxic endothelial cells. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 199:165-170.
55. Haynes, W.G.; F.E. Strachan y D.J. Webb. 1995. Endothelin ET_A and ET_B receptors cause vasoconstriction of human resistance and capacitance vessels in vivo. *Circ.*, 92:357-363.
56. Hellwig-Bürge, T.; K. Rutkowski; E. Metzen; J. Fandrey y W. Jelkmann. 1999. Interleukin-1 α and tumor necrosis factor- α stimulate DNA binding of hypoxia-inducible factor-1. *Blood*, 94(5):1561-1567.
57. Hintze T.H.; H. Tada; K.E. Loke y F.A. Recchia. 1999. Contribution of nitric oxide to the control of cardiac oxygen and substrate consumption during the development of heart failure. *J. Cardiac. Failure*, 5(Supp2):23.
58. Hodgin, J.B.; J.W. Knowles; H.S. Kim; O. Smithies y N. Maeda. 2002. Interactions between endothelial nitric oxide synthase and sex hormones in vascular protection in mice. *J. Clin. Inves.*, 109:541-548.
59. Hohenhaus, E.; A. Paul; R.E. McCullough; H. Kucherer y P. Bartsch. 1995. Ventilatory and pulmonary vascular response to hypoxia and susceptibility to high altitude pulmonary edema. *Eur. Respir. J.*, 8(11):1825-1833.
60. Hu, J.; D.J. Discher; N.H. Bishopric y K.A. Webster. 1998. Hypoxia regulates expression of the endothelin-1 gene through a proximal hypoxia-inducible factor-1 binding site on the antisense strand. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 245:894-899.
61. Huang, L.E.; Z. Arany; D.M. Livingston y H.F. Bunn. 1996. Activation of hypoxia-inducible transcription factor depends primarily upon redox-sensitive stabilization of its alpha subunit. *J. Biol. Chem.* 271:32253-32259.

62. Ichinose, F.; R. Ullrich; A. Sapirstein; R.C. Jones; J.V. Bonventre; C.N. Serhan; K.D. Bloch y W.M. Zapol. 2002. Cytosolic phospholipase A2 in hypoxic pulmonary vasoconstriction. *J. Clin. Invest.*, 109(11):1493-1500.
63. Ivan, M.; K. Kondo; H. Yang; W. Kim; J. Valiando; M. Ohh; A. Salic; J.M. Asara; W.S. Lane y W.G. Kaelin Jr. 2001. HIF- α targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: Implications for O₂ sensing. *Science*, 292:464-468.
64. Jaakkola, P.; D.R. Mole; Y.M. Tian; M.I. Wilson; J. Gielbert; S.J. Gaskell; A. Kriegsheim; H.F. Hebestreit; M. Mukherji; C.J. Schofield; P.H. Maxwell; C.W. Pugh y P.J. Ratcliffe. 2001. Targeting of HIF- α to the Von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O₂ regulated prolyl hydroxylation. *Science*, 292:468-472.
65. Khan, K.N.M.; C.M. Venturi; R.T. Bunch; J.A. Brassard; A.T. Koki; D.L. Morris; B.F. Trump; T.J. Maziasz y C.L. Alden. 1998. Interspecies differences in renal localization of cyclooxygenase isoforms: Implications in nonsteroidal anti-inflammatory drug-related nephrotoxicity. *Toxicol. Pathol.*, 26:612-620.
66. Kobzik, L.; D.S. Bredt; C.J. Lowenstein; J. Drazen; B. Gaston; D. Sugarbaker; y J.S. Stamler. 1993. Nitric oxide synthase in human and rat lung: Immunohistochemical and histochemical localization. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 9:371-377.
67. Kuida, H.; A.M. Brown; J.L. Thorne; R.L. Lange y H.H. Hecht. 1962. Pulmonary vascular response to acute hypoxia in normal, unanesthetized calves. *Am. J. Physiol.*; 203(2):391-396.
68. Lando, D.; J.J. Gorman; M.L. Whitelaw y D.J. Peet. 2003. Oxygen-dependent regulation of hypoxia-inducible factors by prolyl and asparaginyl hydroxylation. *Eur. J. Biochem.*, 270(5):781-790.
69. Lee, S.L.; W.W. Wang; J.J. Lanzillo y B.L. Fanburg. 1994. Regulation of serotonin-induced DNA synthesis of bovine pulmonary artery smooth muscle cells. *Am. J. Physiol.*, 266:L53-L60.
70. Liu, Y.; S. Cox; T. Morita y S. Kourembanas. 1995. Hypoxia regulates vascular endothelial growth factor gene expression in endothelial cells. *Circ. Res.*, 77:638-643.

71. Maloney, C.G.; W.A. Kutchera; K.H. Albertine; T.M. McIntyre; S.M. Prescott y G.A. Zimmerman. 1998. Inflammatory agonists induce cyclooxygenase type 2 expression by human neutrophils. *J. Immunol.*, 160:1402-1410.
72. Mazzeo, R.S.; A. Child; G.E. Butterfield; J.T. Mawson; S. Zamudio y L.G. Moore. 1998. Catecholamine response during 12 days of high-altitude exposure (4300m.) in women. *Blood*, 84(4):1151-1157.
73. McAdam, B.F.; IA. Mardini; A. Habib; A. Burke; J.A. Lawson y G.A. FitzGerald. 2000. Effect of regulated expression of human cyclooxygenase isoforms on eicosanoid and isoeicosanoid production in inflammation. *J. Clin. Invest.*, 105(10):1473-1482.
74. Meade, E.A.; D.A. Jones; G.A. Zimmerman; T.M. McIntyre y S.M. Prescott. 1996. Prostaglandins and related compounds: lipid messengers with many actions. *Handbook of Lipid Research*, Chapter 9, Vol. 8. Lipid Second Messengers. R.M. Bell; J.H. Exton; S.M. Prescott, eds. *Plenum Press*, New York, p. 285.
75. Minet, E.; T. Arnould; G. Michel; I. Roland; D. Mottet; M. Raes; J. Remacle y C. Michiels. 2000. ERK activation upon hypoxia: involvement in HIF-1 activation. *FEBS Lett.*, 468:53-58.
76. Mizuguchi, T.; M. Nishiyama; K. Moroi; H. Tanaka; T. Saito; Y. Masuda; T. Masaki; D. de Wit; M. Yanagisawa y S. Kimura. 1997. Analysis of two pharmacologically predicted endothelin B receptor subtypes by using the endothelin B receptor gene knockout mouse. *Br. J. Pharmacol.*, 120:1427-1430.
77. Noel-Jorand, M.C. y H. Burnet. 1994. Changes in human respiratory sensation induced by acute high altitude hypoxia. *Neuroreport.*, 5(3):1561-1566.
78. Ocampo, J. 1997. Efecto del ketoprofeno sobre la presión arterial pulmonar en bovinos de altura. Tesis Bachillerato. *Fac. Med. Vet. Univ. Nac. San Marcos*, Lima, 48p.
79. Ou, L.C; S. Salceda; S.J. Schuster; L.M. Dunnack; T. Brink-Johnsen J. Chen y J.C. Leiter. 1998. Polycythemic responses to hypoxia: molecular and genetic mechanisms of chronic mountain sickness. *J. Appl. Physiol.*, 84:1242-1251.

80. Patel, A.J.; M. Lazdunski y E. Honoré. 1997. Kv2.1/Kv9.3, a novel ATP-dependent delayed rectifier K⁺ channel in oxygen-sensitive pulmonary artery myocytes. *E.M.B.O. J.*, 16:6615-6625.
81. Pearlstein, D.P.; M.H. Ali; P.T. Mungai; K.L. Hynes; B.L. Gewertz y P.T. Schumacker. 2002. Role of mitochondrial oxidant generation in endothelial cell response to hypoxia. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 22:566-573.
82. Peers, C. 1997. Oxygen-sensitive ion channels. *Trends Pharmacol. Sci.*, 18:405-408.
83. Peña, J.; A.S. De Aluja y R. Navarro. 1992. Insuficiencia cardiaca congestiva derecha en becerras Holstein de reemplazo II. Clínica y patología. *Vet. Mex.*, 23(2):141-147.
84. Pernow, J.; L. Kaijser; J.M. Lundberg y G. Ahlborg. 1996. Comparable potent coronary constrictor effects of endothelin-1 and Big endothelin-1 in humans. *Circ.*, 94:2077-2082.
85. Post, J.M.; C.H. Gelband y J.R. Hume. 1995. [Ca²⁺]_i inhibition of K⁺ channels in canine pulmonary artery. Novel mechanism for hypoxia-induced membrane depolarization. *Circ. Res.*, 77:131-139.
86. Raffestin, B.; S. Adnot y S. Eddahibi. 2002. Roles of vasoconstriction and gene expression in hypoxia-induced pulmonary vascular remodeling. *Fac. Méd. Univ. de Creteil*. Creteil, 21p.
87. Raychaudhuri, B.; R. Dweik; M.J. Connors; L. Buhrow; A. Malur; J. Drazba; A.C. Arroliga; S.C. Erzurum; M.S. Kavuru y M.J. Thomassen. 1999. Nitric oxide blocks nuclear factor- κ B activation in alveolar macrophages. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 21:311-316.
88. Reeve, H.L.; S.L. Archer y E.K. Weir. 1997. Ion channels in the pulmonary vasculature. *Pulm. Pharmacol. Ther.*, 10:234-252.
89. Reeve, H.L.; E.K. Weir; D.P. Nelson; D.A. Peterson y S.L. Archer. 1995. Opposing effects of oxidants and antioxidants on K⁺ channel activity and tone in rat vascular tissue. *Exp. Physiol.*, 80:825-834.
90. Reeves, J.T.; E.B. Grover y R.F. Grover. 1963. Pulmonary circulation and oxygen transport in lambs at high altitude. *J. Appl. Physiol.*, 18:560-566.

91. Roberts, J.D.; C.T. Roberts; R.C. Jones; W.M. Zapol y K.D. Bloch. 1995. Continuous nitric oxide inhalation reduces pulmonary arterial structural changes, right ventricular hypertrophy, and growth retardation in the hypoxic newborn rat. *Circ. Res.*, 76:215-222.
92. Rosenberger, C.; S. Mandriota; J.S. Jurgensen; M.S. Wiesener; J.H. Horstrup; U. Frei; P.J. Ratcliffe; P.H. Maxwell; S. Bachmann, y K.U. Eckardt. 2002. Expression of hypoxia-inducible factor-1 α and -2 α in hypoxic and ischemic rat kidneys. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 13(7):1721-1732.
93. Sandau, K.B.; J. Fandrey y B. Brüne. 2001. Accumulation of HIF-1 α under the influence of nitric oxide. *Blood*, 97(4):1009-1015.
94. Sandau, K.B.; H.G. Faus y B. Brune. 2000. Induction of hypoxia-inducible-factor-1 by nitric oxide is mediated via the PI 3K pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 278, 263–267.
95. Semenza, G.L. 2001a. Hypoxia-inducible factor-1: oxygen homeostasis and disease pathophysiology. *Trends Mol. Med.*, 7:345-350.
96. Semenza, G.L. 2001b. HIF-1 and mechanisms of hypoxia sensing. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 13:167-171.
97. Serhan, C.N. y E. Oliw. 2001. Unorthodox routes to prostanoïd formation: New twists in cyclooxygenase-initiated pathways. *J. Clin. Invest.*, 107(12):1481-1489.
98. Sham, J.S. 2002. Hypoxic pulmonary vasoconstriction. Ups and downs of reactive oxygen species. *Circ. Res.*, 91:649-651.
99. Sham, J.S.; B.R. Crenshaw Jr.; L.H. Deng; L.A. Shimoda y J.T. Sylvester. 2000. Effects of hypoxia in porcine pulmonary arterial myocytes: roles of Kv channel and endothelin-1. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 279:L262-L272.
100. Sheta, E.A.; H. Trout; J.J. Gildea; M.A. Harding y D. Theodorescu. 2001. Cell density mediated pericellular hypoxia leads to induction of HIF-1 α via nitric oxide and Ras/MAP kinase mediated signaling pathways. *Oncogene*, 20:7624-7634.
101. Smith, W.L.; R.M. Garavito y D. L. DeWitt. 1996. Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases)-1 and -2. *J. Biol. Chem.*, 271:33157-33160.

102. Smith, R. y R.L. Hamlin. 1981. Circulación pulmonar, hepática, ruminal, encefálica y cardíaca. In. Dukes H.H. y M.J. Swenson. Fisiología de los animales domésticos. 4° Ed. M. Aguilar editors:411- 417.
103. Steudel, W.; M. Scherrer-Crosbie; K.D. Bloch; J. Weimann; P.L. Huang; R.C. Jones; M.H. Picard y W.M. Zapol. 1998. Sustained pulmonary hypertension and right ventricular hypertrophy after chronic hypoxia in mice with congenital deficiency of nitric oxide synthase 3. *J. Clin. Invest.*, 101:2468-2477.
104. Steudel, W.; F. Ichinose; P.L. Huang; W.E. Hurford; R.C. Jones; J.A. Bevan; M.C. Fishman y W.M. Zapol. 1997. Pulmonary vasoconstriction and hypertension in mice with targeted disruption of the endothelial nitric oxide synthase (NOS3) gene. *Circ. Res.*, 81:34-41.
105. Stiebellehner, L.; M.G. Frid; J.T. Reeves; R.B. Low; M. Gnanasekharan y K.R. Stenmark. 2003. Bovine distal pulmonary arterial media is composed of a uniform population of well-differentiated smooth muscle cells with low proliferative capabilities. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 285:L819-L828.
106. Stuehr, D.J. y O.W. Griffith. 1992. Mammalian nitric oxide synthases. *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.*, 65:287-346.
107. Sugden, P.H. y M.A. Bogoyevitch. 1996. Endothelin-1-dependent signaling pathways in the myocardium. *Trends Cardiovasc. Med.*, 6:87-94.
108. Sylvester, J.T. 2001. Hypoxic pulmonary vasoconstriction. A radical view. *Circ. Res.*, 88:1228-1230.
109. Sylvester, J.T.; J.S.K. Sham; L.A. Shimoda y Q. Liu. 2001. Cellular mechanisms of acute hypoxic pulmonary vasoconstriction. In: Scharf, S.M.; M.R. Pinsky; S. Magder Eds. p. 351-359. *Respiratory-Circulatory Interactions in Health and Disease*, New York.
110. Tarumoto, T. ; S. Imagawa; K. Ohmine; T. Nagai; M. Higuchi; N. Imai; N. Suzuki; M. Yamamoto y K. Ozawa. 2000. NG-monomethyl-L-arginine inhibits erythropoietin gene expression by stimulating GATA-2. *Blood*, 96(5):1716-1722.
111. Tovar, P. 1995. Regulación de la actividad cardíaca. En: Fisiología Veterinaria. Cap. 26, Ed. A. García. Editorial Interamericana Mc. Graw-Hill, Madrid.

112. Tucker, A.; I.F. McMurtry; J.T. Reeves; A.F. Alexander; D.H. Will y R.F. Grover. 1975. Lung vascular smooth muscle as a determinant of pulmonary hypertension at high altitude. *Am. J. Physiol.*, 228(3):762-767.
113. Uzun, O.; A.T. Demiryurek y I. Kanzik. 1998. The role of tyrosine kinase in hypoxic constriction of sheep pulmonary artery rings. *Eur. J. Pharmacol.*, 358:41-47.
114. Velásquez, L. 1988. Mal de montaña / sickness of high altitude. *Gac. Med. Boliv.*; 12(2):70-73.
115. Verhaar, M.C.; F.E. Strachan; D.E. Newby; N.L. Cruden; H.A. Koomans; T.J. Rabelink y D.J. Webb. 1998. Endothelin-A receptor antagonist-mediated vasodilation is attenuated by inhibition of nitric oxide synthesis and by endothelin-B receptor blockade. *Circ.*, 97:752-756.
116. Veyssier-Belot, C. y P. Cacoub. 1999. Role of endothelial and smooth muscle cells in the physiopathology and treatment management of pulmonary hypertension. *Cardiovasc. Res.*, 44:274-282.
117. Voelkel, N.F. y R.M. Tuder. 1997. Cellular and molecular biology of vascular smooth muscle cells in pulmonary hypertension. *Pulm. Pharmacol. Ther.*, 10:231-241.
118. Vogel, J.; I. Kiessling; K. Heinicke; T. Stallmach; P. Ossent; O. Vogel; M. Aulmann; T. Frietsch; H. Schmid-Schonbein; W. Kuschinsky y M. Gassmann. 2003. Transgenic mice overexpressing erythropoietin adapt to excessive erythrocytosis by regulating blood viscosity. *Blood*, 102(6):2278-2284.
119. Wang, J.; M. Juhaszova; L.J. Rubin y X.Y. Yuan. 1997. Hypoxia inhibits gene expression of voltage-gated K⁺ channel α subunits in pulmonary artery smooth muscle cells. *J. Clin. Invest.*, 100:2347-2353.
120. Ward, J.P. y P.I. Aaronson. 1999. Mechanisms of hypoxic pulmonary vasoconstriction: can anyone be right?. *Respir. Physiol.*, 115:261-271.
121. Warnholtz, A.; M. Wendt y T. Münzel. 2002. When sleeping beauty turns ugly: mitochondria in hypoxia. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 22:525-527.
122. Waypa G.B.; N.S. Chandel y P.T. Schumacker. 2001. Model for hypoxic pulmonary vasoconstriction involving mitochondrial oxygen sensing. *Circ. Res.*, 88:1259-1266.

123. Webb, R.C. 2003. Smooth muscle contraction and relaxation. *Adv. Physiol. Education*, 27(4):201-206.
124. Weir, E.K. y S.L. Archer. 1995. The mechanism of acute hypoxic pulmonary vasoconstriction. *F.A.S.E.B.J.*, 9:183-189.
125. Weissmann, N.; F. Grimminger; A. Olschewski y W. Seeger. 2001. Hypoxic pulmonary vasoconstriction: a multifactorial response? *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 281: L314-L317.
126. Weissmann, N.; R. Voswinckel; T. Hardebusch; S. Rosseau; H.A. Ghofrani; R. Schermuly; W. Seeger y F. Grimminger. 1999. Evidence for a role of protein kinase C in hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 276:L90-L95.
127. Wen, F.Q.; K. Watanabe y M. Yoshida. 1998. Eicosanoid profile in cultured human pulmonary artery smooth muscle cells treated with IL-1 α and TNF- α . *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 59: 71-75.
128. Wenger, R.H. 2002. Cellular adaptation to hypoxia: O₂-sensing protein hydroxylases, hypoxia-inducible transcription factors, and O₂-regulated gene expression. *F.A.S.E.B.J.*, 16(10):1151-1162.
129. Wenger, R.H. 2000. Mammalian oxygen sensing, signalling and gene regulation. *J. Exp. Biol.*, 203:1253-1263.
130. Will, D.H.; J.L. Hicks; C.S. Card y A.F. Alexander. 1975. Inherited susceptibility of cattle to high-altitude pulmonary hypertension. *J. Appl. Physiol.*, 38(3):491-494.
131. Will, D.H.; A.F. Alexander; J.T. Reeves y R.F. Grover. 1962. High altitude induced pulmonary hypertension in normal cattle. *Cir. Res.*, 10:172-177.
132. Yamashita, K.; D.J. Discher; J. Hu; N.H. Bishopric y K.A. Webster. 2001. Molecular regulation of the endothelin-1 gene by hypoxia. Contributions of hypoxia-inducible factor-1, activator protein-1, GATA-2 and p300/CBP. *J. Biol. Chem.*, 276:12645-12653.
133. Yang, X.; K.K.K. Sheares; N. Davie; P.D. Upton; G.W. Taylor; J. Horsley; J. Wharton y N.W. Morrell. 2002. Hypoxic induction of COX-2 regulates proliferation of human pulmonary artery smooth muscle cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 27:688-696.

134. Yuan, Y.; G. Hilliard; T. Ferguson y D.E. Millhorn. 2003. Cobalt inhibits the interaction between hypoxia-inducible factor and Von Hippel-Lindau protein by direct binding to hypoxia-inducible factor-1. *J. Biol. Chem.*, 278:15911-15916.
135. Zhao, Y.; C.S. Parker y R.A. Rhoades. 1993. Pulmonary veins contract in response to hypoxia. *Am. J. Physiol.*, 265:L87-L92.
136. Zundel, W.; C. Schindler; D. Haas-Kogan; A. Koong; F. Kaper; E. Chen; A.R. Gottschalk; H.E. Ryan; R.S. Johnson; A.B. Jefferson; D. Stokoe y A.J. Giaccia. 2000. Loss of PTEN facilitates HIF-1-mediated gene expression. *Genes Dev.*, 14:391-396.

APÉNDICE

Apéndice N° 1. Valores de la PAPm (mmHg) en terneros Jersey a nivel del mar en los animales control y tratamiento.

Apéndice N° 2. Valores de la PAPm (mmHg) en terneros Jersey al tercer día de exposición a la altura en los animales control y tratamiento.

Apéndice N° 1: Valores de la PAPm (mmHg) en terneros Jersey a nivel del mar en los animales control y tratamiento.

CONTROL	TRATAMIENTO
17.50	15.00
18.75	25.00
18.75	22.50
20.00	20.00
20.00	22.50

Apéndice N° 2: Valores de la PAPm (mmHg) en terneros Jersey al tercer día de exposición a la altura en los animales control y tratamiento.

CONTROL	TRATAMIENTO
35.00	42.50
42.50	28.75
50.00	27.50
35.00	30.00
35.00	27.50