

RESPUESTA VENTILATORIA HIPOXICA Y AFINIDAD DE LA HEMOGLOBINA: UNA PERSPECTIVA DE FISIOLOGIA COMPARATIVA

María Rivera-Ch., Luis Huicho

Unidad de Transporte de Oxígeno, Departamento de Ciencias Fisiológicas e
Instituto de Investigaciones de la Altura, Universidad Peruana Cayetano Heredia

RESUMEN

El presente artículo tiene como objetivo hacer una evaluación de las características del transporte de oxígeno, específicamente la respuesta ventilatoria hipoxica (RVH) y la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno (afinidad Hb-O₂), entre especies animales con diseño biológico de hipoxia y aquellos sin tal diseño, enfatizando en los estudios comparativos entre cobayo y rata. El uso de cianato de sodio (NaCON) y el ácido fítico, que modifican la afinidad Hb-O₂ permite evaluar la correlación entre los dos componentes de la cascada de transporte de oxígeno y entre ambos tipos de animales. La ventilación normoxica, la concentración de hemoglobina (Hb) y el P50 son significativamente menores en cobayos que en ratas. La administración de NaCON disminuye el P50 significativamente menos en cobayos que en ratas. La alta afinidad inducida por el NaOCN no modifica la RVH de cobayos ni de ratas. Al mismo nivel de hipoxia aguda (PO₂ 78 torr), la RVH es significativamente menor en cobayos que en ratas tratados con NaOCN. La administración de ácido fítico aumenta el P50 significativamente más en cobayos que en ratas. Cobayos con baja afinidad Hb-O₂ inducida por ácido fítico no modifican su RVH significativamente. El porcentaje de cambio en la ventilación (de normoxia a hipoxia) no es muy diferente en cobayos que en ratas tratados con ácido fítico. Similarmente, al mismo nivel de hipoxia aguda (PO₂ 78 torr), la RVH es menor en cobayos que en ratas tratadas con ácido fítico. Cuando el P50 inicial es relativamente alto (ratas) el ácido fítico modifica el P50, pero en menor grado que cuando el P50 inicial es relativamente bajo (cobayos). Los estudios realizados demuestran que RVH y P50 se comportan como parámetros fisiológicos más bien independientes, por lo menos bajo condiciones experimentales. Estos datos también sugieren que el cobayo utiliza probablemente estrategias adaptativas tisulares y bioquímicas, además de sus respuestas extracelulares limitadas, para enfrentar con éxito la hipoxia ambiental. Estudios adicionales realizados en cobayos nativos de altura, demuestran que el volumen espiratorio no difiere significativamente en los controles y los tratados con NaOCN cuando respiran mezcla normoxica (PO₂ 151 torr), aire ambiental hipoxico (PO₂ 104 torr) y mezcla hipoxica (PO₂ 43 torr). Los cobayos tratados con ácido fítico que respiran una mezcla hipoxica de 43 torr muestran una respuesta hiperventilatoria, pero no los controles. La inducción experimental de baja afinidad en un animal que tiene característicamente alta afinidad resulta en hiperventilación frente a un bajo PO₂. Esto se debe probablemente a una alteración en la homeostasis del transporte de oxígeno.

Palabras Clave: Afinidad de la Hemoglobina, Cianato de sodio, Ácido fítico, Respuesta ventilatoria hipoxica, Hipoxia aguda, Transporte de oxígeno, Adaptación.

SUMMARY

The aim is to evaluate comparatively the characteristics of oxygen transport, particularly the hypoxic ventilatory response (HVR) and the hemoglobin-oxygen affinity (Hb-O₂ affinity), in animals with and without a high altitude biologic design. We emphasize the information obtained from comparative studies between guinea pigs and rats performed by our group. The utilization of sodium cyanate (NaOCN) and phytic acid which modify the Hb-O₂ affinity allow the correlation between this parameter and the ventilation. Normoxic ventilation, hemoglobin concentration (Hb) and P50 are significantly lower in guinea pigs than in rats. NaOCN administration decreases the P50 significantly less in guinea pigs than in rats. The high Hb-O₂ affinity induced did not modify the HVR of guinea pigs and rats. At the same level of acute hypoxia (PO₂ 78 torr), HVR is significantly lower in treated guinea pigs than in treated rats. Phytic acid administration increases the P50 significantly more in guinea pigs than in rats. Guinea pigs with low Hb-O₂ affinity induced by exogenous phytic acid did not modify their HVR significantly. The percent of change of ventilation was not very different in guinea pigs as compared with rats. At the same level of hypoxia (PO₂ 78 torr), HVR was significantly lower in phytic acid treated guinea pigs than in treated rats. When P50 is relatively high (rats), phytic acid administration changed P50, but in a lesser degree than when the values were relatively low (guinea pigs). The above results support the notion that the guinea pig most probably resort to cell-level strategies to successfully tolerate the hypoxia ambient in addition to their limited extracellular responses. More recent studies performed in guinea pigs native to high altitude show that expiratory volume does not differ significantly in controls and NaOCN-treated animals when they breath a normoxic gaseous mix (PO₂ 151 torr), hypoxic ambient air (PO₂ 104 torr) and severe hypoxic mix (PO₂ 43 torr). In addition, phytic acid-treated guinea pigs breathing a hypoxic mix (PO₂ 43 torr) show a hyperventilatory response, but not the controls. The experimental induction of low affinity in an animal with a naturally high Hb-O₂ affinity results in hyperventilation when the animal is challenged with a low PO₂. This is probably due to an alteration in the homeostasis of oxygen transport.

Key Words: Hemoglobin-Oxygen affinity; Sodium cyanate; Hypoxic ventilatory response; acute hypoxia; Oxygen transport; Adaptation.

INTRODUCCION

La historia evolutiva de los animales demuestra que estos se trasladaron de los ambientes marinos hacia el ambiente terrestre, donde se encuentra la mayor concentración ambiental de oxígeno en el planeta. En América, hacia finales del Oligoceno, se produjo el inicio del levantamiento de los Andes, los cuales alcanzaron una altura menor a 500 m aproximadamente al final de Oligoceno (Mac Fadden y col, 1994). Este evento posibilitó el poblamiento de los Andes por diversas especies animales y mucho después por el hombre.

En los ambientes de altura la presión barométrica disminuye y por tanto lo hace la presión de oxígeno ambiental. Dependiendo del tiempo evolutivo de exposición a la hipoxia, un animal se puede comportar como un organismo con diseño genético de altura, si su historia de poblamiento de altura es larga, o como un animal con diseño de nivel del mar o de baja altitud, si su historia de poblamiento de altura es breve. Es de esperarse que un animal genéticamente adaptado a la altura haya desarrollado modificaciones estructurales y funcionales que en conjunto le permitan vivir y reproducirse con éxito en tal ambiente. Aquellos animales no genéticamente adaptados en cambio no han desarrollado dichas modificaciones y eso a largo plazo limitará una adecuada supervivencia y reproducción. Pueden presentar incluso condiciones patológicas (Mal de Montaña Crónico), como consecuencia de la desadaptación o maladaptación a la disminución de la PO_2 ambiental. La mayoría de estos animales fueron introducidos en tiempos históricos recientes, contemporáneos con la conquista española (Monge-C y León-Velarde, 1991).

Los humanos también tienen un diseño genético que concuerda más con el de los animales no genéticamente adaptados. En humanos nativos de altura, al igual que en los animales no genéticamente adaptados, se ha demostrado que la hipoventilación, que se produce con la edad, lleva eventualmente al Mal de Montaña Crónico (Sime, 1973), por supuesto de la mano con otros factores concurrentes. Se ha sugerido sin embargo, que incluso en los humanos, aquellas poblaciones con historias más largas de exposición a la altura, como las poblaciones del Tibet, pueden haber desarrollado estrategias adaptativas relativamente más avanzadas que los nativos de los Andes sudamericanos. A diferencia de las especies no genéticamente adaptadas, entre algunas características distintivas desarrolladas por los animales con diseño genético de altura, se puede mencionar tres que se han demostrado de manera consistente en múltiples estudios: una respuesta ventilatoria menor a la hipoxia, una mayor afinidad de la hemoglobina por el oxígeno (P50) y la ausencia de eritremia como respuesta a una disminución de la PO_2 .

Por lo tanto, en esta revisión concentraremos nuestra atención en estos tres componentes de la cascada del transporte de oxígeno.

VENTILACION

La ventilación permite movilizar el aire desde el ambiente hacia los alvéolos y viceversa. Es de esperarse que las especies con mayor sensibilidad para captar presiones de oxígeno menores tengan más probabilidades de incrementar su ventilación para tratar de captar del ambiente mayor proporción de oxígeno. En cobayos aclimatados a hipoxia correspondiente a 430 torr de presión barométrica durante 11-15 semanas, se ha encontrado una diferencia en la ventilación 30% mayor que en los controles, básicamente debido a un incremento en el volumen de aire corriente (volumen tidal), sin que haya un incremento simultáneo en el consumo de oxígeno, (Blake y Banchero, 1985). Se ha descrito que la respuesta ventilatoria a la hipoxia (RVH) varía entre diferentes especies, y que parece depender de la severidad y la duración de la hipoxia (Bouverot, 1985). En mamíferos pequeños, específicamente en ratones, se ha encontrado una respuesta ventilatoria atenuada a la hipoxia (umbral menor de respuesta ventilatoria a una menor PIO_2) (Barclay, A. 1982; Muñoz MS. 1983.), y lo mismo se ha demostrado en ratas (Barer y col. , 1976). En el ganso de los Himalayas, la llama (Van Nice y col. , 1980) y el cobayo (Blake y Banchero, 1985) el umbral de respuesta a la hipoxia es mayor en comparación con los animales no genéticamente adaptados. Se entiende por umbral ventilatorio hipóxico la PaO_2 a la cual se produce un incremento significativo en la ventilación. Aún cuando hay necesidad de estudios adicionales de respuesta ventilatoria hipóxica en otras especies animales nativas y no nativas de altura, los datos disponibles indican que los animales nativos de altura necesitan grados de hipoxia aguda más severos para incrementar su ventilación. Nuestro grupo ha demostrado también que los cobayos tienen una menor ventilación en condiciones de normoxia en comparación con las ratas, y que requieren respirar mezclas hipóxicas con menores concentraciones de oxígeno para incrementar significativamente su respuesta ventilatoria (Rivera-Ch. y col. ; 1994, Rivera-Ch. y col. al. , 1995).

AFINIDAD DE LA HEMOGLOBINA POR EL OXIGENO

Este componente de la cascada del transporte de oxígeno (afinidad $Hb-O_2$) determina la facilidad con la que la hemoglobina cede oxígeno a los tejidos. Es posible medir esta característica de la hemoglobina a través de la determinación de la P50, que se define como la PO_2 a la cual la hemoglobina está saturada

en un 50%. Una alta afinidad Hb-O₂, traducida en una baja P50 para el peso corporal, es característica de aves o mamíferos genéticamente adaptados a la altura (Monge-C y Whittembury, 1976; Monge-C y León-Velarde, 1991). En estos animales nativos de altura, la selección natural parece favorecer una alta afinidad Hb-O₂ (Tenney SM, 1995). Una curva de disociación del oxígeno (ODC) desviada a la izquierda permite a tales animales mantener una alta saturación venosa de oxígeno en presencia de una baja presión arterial de oxígeno. Según Barker (1957), Banchero y col. (1971) y Turek y Rakusan (1993), esta desviación de la curva a la izquierda se acompaña de una utilización de oxígeno más eficiente por los tejidos, permitiendo una mejor tolerancia de estos animales a condiciones hipoxicas. En cambio, una ODC desviada a la derecha implica mayor facilidad de entrega del oxígeno a los tejidos, pero con la consecuente desventaja de una disminución de la cantidad de oxígeno en la hemoglobina. Esta baja afinidad Hb-O₂ o alta P50 es característica fisiológica de animales considerados no genéticamente adaptados a la altura.

MODIFICACION FARMACOLOGICA DE LA AFINIDAD Hb-O₂

Los organismos poseen sustancias endógenas que regulan la afinidad Hb-O₂ (P50). El tipo particular de estos reguladores puede variar. Así por ejemplo, en los glóbulos rojos nucleados de las aves predomina el inositol pentafosfato (IPP), identificado por Johnson y Tate (1969). En cambio, el fosfato orgánico que se encuentra en los glóbulos rojos de los mamíferos, excepto en los de algunos rumiantes (vaca, oveja), es el 2,3-DPG. Según algunos reportes el IPP tiene función similar al 2,3-DPG de los glóbulos rojos no nucleados de mamíferos (Vandecasserie y col., 1971; Ochiai y col., 1972; Vandecasserie y col., 1973). Ambos, el inositol pentafosfato y el 2,3-DPG, actúan como modificadores alostéricos de la hemoglobina. Tal modificación sucede al producirse la unión de los grupos fosfato a la deoxihemoglobina a nivel del grupo amino terminal de las cadenas beta (Benesh y col., 1972), ocasionando un aumento del P50. El ácido fítico (inositol hexafosfato) es un fosfato orgánico que inicialmente fue reconocido como el fosfato orgánico predominante en los glóbulos rojos de aves. Se lo encuentra en forma de sal dodecasódica (inositol hexaortofosfato) en los cereales (Johnson y Tate, 1969).

Es posible modificar la afinidad Hb-O₂ a través de la administración exógena de agentes farmacológicamente activos. Tal vez el agente mejor conocido en tal sentido es el cianato de sodio (NaOCN). Se ha descrito que el NaOCN incrementa la afinidad Hb-O₂ (P50 menor) (Cerami y col., 1973) al producir una carbamilación del grupo amino terminal de la

valina de las cadenas beta de la hemoglobina. El NaOCN ha sido utilizado para estudiar las modificaciones que se producen en las respuestas fisiológicas de animales no genéticamente adaptados a la altura (Turek y col., 1976, 1978 a y b; Eaton y col., 1974; Fukuda y col., 1988; Shumacker y col., 1985; Rivera-Ch y col., 1991). Para una revisión más detallada de la utilidad del NaOCN como instrumento para estudiar diversos componentes de la cascada de transporte de oxígeno en diversas especies animales y en diversas circunstancias, se remite al lector a una revisión más extensa sobre el tema (Rivera-Ch et al., 1996). En contraste, los estudios realizados para desviar la curva de la afinidad Hb-O₂ a la derecha administrando agentes farmacológicamente activos, son muy escasos en la literatura. Por ejemplo, *in vitro*, el bezafibrato, una droga hipolipemianta, disminuye significativamente la afinidad Hb-O₂ (Perutz y Poyart, 1983). La encapsulación *in vitro* de ácido fítico en eritrocitos es capaz de reducir la afinidad Hb-O₂ de la hemoglobina, manteniendo las propiedades reológicas y la función de membrana de los hematíes (Weiner y Franco, 1986). Sin embargo, no se conoce de estudios previos de la administración exógena *in vivo* del ácido fítico para evaluar sus efectos sobre la afinidad Hb-O₂ en animales de experimentación o en humanos. Con la información obtenida en estudios de múltiples autores y los de nuestro grupo con el uso del NaOCN, decidimos intentar modificar experimentalmente la afinidad Hb-O₂ en el sentido inverso, es decir, tratar de disminuir dicha afinidad, para lo que decidimos usar ácido fítico. En resumen, podemos citar entre los hallazgos más notables revelados con esta manipulación farmacológica las siguientes. Primero, el NaOCN disminuye la P50, pero lo hace significativamente menos en cobayos que en ratas (Rivera-Ch et al., 1994).

El ácido fítico, por su parte, produce un aumento en la P50, comparativamente mayor en los cobayos que en las ratas (Rivera-Ch et al., 1995). El porcentaje de disminución en el P50 después de la administración del cianato en cobayos fue menor comparado con el observado en las ratas (fig 1). Si bien una alta afinidad Hb-O₂ puede llevar a una menor liberación del oxígeno en los tejidos (Banchero y col., 1971) encontraron en llamas, un PvO₂ más bajo que en muchos otros mamíferos, reflejando este hecho un eficiente mecanismo de captación de oxígeno por los tejidos. Turek y col. (1978) mostraron que bajo condiciones de normoxia, las ratas tratadas con NaOCN tienen una baja PO₂ venosa con respecto a los controles. Estos autores infieren que esta característica es ventajosa para animales que son expuestos a hipoxia severa (5.6% de oxígeno), los que muestran una PO₂ venosa mayor que los controles. Sin embargo, podría argumentarse que la combinación de alta afinidad Hb-O₂ con ausencia de incremento significativo de Hb podría resultar en una oxigenación deficiente a nivel tisular.

Con el objeto de conocer el efecto que tiene una alta afinidad combinada con una baja Hb sobre la oxigenación tisular, Turek y Rakusan (1993), desarrollaron un modelo teórico computarizado sobre la oxigenación tisular. Estos autores encontraron que tal combinación en cobayos resulta en una mejor oxigenación tisular del miocardio cuando se compara con los resultados obtenidos en ratas expuestas a altura.

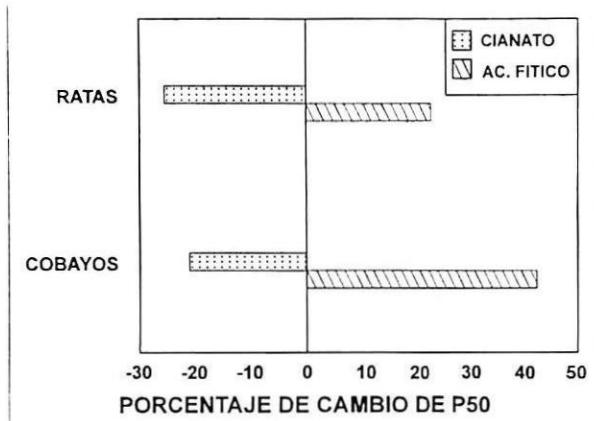


Figura 1. Variación del P50 (%) en ratas y cobayos tratados con cianato y ácido fítico.

Figura 1

Contrariamente a lo observado cuando se utilizó NaOCN, la administración de ácido fítico produjo una disminución de la afinidad Hb-O₂ significativamente mayor en cobayos que en ratas expuestas a este agente farmacológico. El rango de valores de P50 que se encuentra en condiciones naturales es amplio. Pequeños mamíferos no nativos de altura, como el ratón y la rata, tienen valores cercanos a 40 torr (Schmidt-Nielsen y Larimer, 1958; Bullard, 1972; Burggren, 1991; Monge & Whittembury, 1976; Turek y col., 1973). De otro lado, en cobayos de nivel del mar, Turek y col., (1980) reportaron un valor de 28.4, en comparación con 37 para ratas de nivel del mar. Nuestros resultados de P50 en animales no expuestos previamente a NaOCN o ácido fítico muestran valores similares a los reportados por Turek y col. (1980). Los cobayos son animales con un P50 natural comparativamente bajo con respecto a las ratas. El P50 de los cobayos está más cercano al límite inferior del rango observado en la naturaleza para mamíferos pequeños, mientras que el de las ratas está más cercano al límite superior (Prosser, 1973; Monge & Whittembury, 1976; Turek y col., 1973). En los cobayos, la administración de NaOCN desvió el P50 en una proporción significativamente menor que en las ratas y contrariamente, el ácido fítico desvió el P50 en un grado significativamente mayor en los cobayos que en las ratas. Este hallazgo parece sugerir que cuando los valores de P50 son cercanos al límite inferior determinado por la naturaleza para cada especie en particular, agentes que desvían el P50 a la izquierda como el NaOCN, son capaces de desplazar en

una menor proporción que cuando los valores de P50 están cercanos al límite superior. En contraste, agentes como el ácido fítico, que desvían la curva hacia altos valores de P50, producen el efecto contrario.

Es interesante señalar que, independientemente del grado de desviación del P50 con NaOCN y ácido fítico, los valores de P50 se mantienen siempre significativamente menores en cobayos que en ratas. Más aún, los cobayos muestran una ventilación/min/peso corporal menor en normoxia, en hipoxia aguda sin NaOCN o ácido fítico, y en hipoxia aguda ya sea con curva desviada a la izquierda por NaOCN o a la derecha por ácido fítico. Estos hallazgos son congruentes con una respuesta extracelular limitada de los cobayos a la hipoxia. Estos animales, genotípicamente adaptados a la altura, no protegen su PO₂ tisular con respuestas extracelulares, y muy probablemente deben recurrir a adaptaciones tisulares y/o bioquímicas para adaptarse a la hipoxia característica de los ambientes de altura. Existen evidencias de tales adaptaciones en diferentes especies. Se ha encontrado diferencias en la capacidad oxidativa muscular entre animales de altura y controles domésticos de nivel del mar en diversas especies animales estudiadas (Reynafarje, 1961; Barrie et al, 1975; Hochachka y col, 1982; Hochachka, 1993). De acuerdo a los estudios reportados y a los resultados de este estudio, parece razonable proponer que el grado de adaptación tisular y/o bioquímica sería mayor en animales genotípicamente adaptados a la altura. Este tema requiere de estudios adicionales.

En los animales tratados con ácido fítico, independientemente de una baja afinidad Hb-O₂ inducida por la droga, la VH expresada como porcentaje de respuesta a la hipoxia no varió significativamente tanto en ratas como en cobayos. Igualmente, la VH fue menor en cobayos que en ratas tanto antes como después de la administración de ácido fítico.

En lo concerniente a los mecanismos que conducen a la respuesta ventilatoria hipoxica, se ha planteado que los sensores de O₂ a nivel celular serían familias de hemoproteínas extramitocondriales parecidas a la citocromo b mitocondrial (Boggs, 1995). Estas proteínas tienen una afinidad por el O₂ mucho menor que la hemoglobina. Se encuentran en una variedad de células tales como células productoras de eritropoyetina, células neuroepiteliales en los pulmones, células musculares lisas en los vasos pulmonares y células tipo I en los cuerpos carotídeos. Los mecanismos exactos implicados en su respuesta a la hipoxia no se conocen bien. Se ha planteado que, de existir una correlación entre RVH y afinidad Hb-O₂, las hemoproteínas sensoras de oxígeno serían el eslabón que une ambos parámetros fisiológicos (Boggs, 1995). La posible relación genética entre estas hemoproteínas y la hemoglobina no ha sido definida con precisión,

pues no se conoce con certeza si tienen o no genes comunes. En nuestro estudio, el hecho de que la ventilación hipoxica no varió de manera significativa con los cambios inducidos en la afinidad Hb-O₂, estaría indicando que las variaciones inducidas farmacológicamente en la molécula de hemoglobina no se acompañan de cambios similares en las moléculas de hemoproteínas sensibles a oxígeno. Podría especularse que exposiciones crónicas al NaOCN y al ácido fítico producirían cambios definitivos en las propiedades de la hemoglobina y de las hemoproteínas a través de modificaciones en los genes de dichas moléculas.

Un factor que podría complicar la interpretación de los resultados de esta manipulación es la posibilidad de toxicidad medicamentosa, particularmente con el NaOCN, si se la administra a dosis comparativamente altas y por tiempos más prolongados (Rivera-Ch y col. al., 1991). No conocemos de reportes similares de toxicidad con la administración de ácido fítico. Debemos remarcar que cuando la P50 fue relativamente alta (ratas), la administración del ácido fítico modificó la P50, pero en un grado menor que cuando los valores iniciales fueron relativamente bajos (cobayos). Estos resultados podrían estar sugiriendo que cuando los valores de la P50 están cerca al extremo inferior «fijado» por la naturaleza para cada especie particular, agentes como el ácido fítico que disminuyen la afinidad pueden mover la P50 en mayor grado que cuando los valores iniciales están cerca al límite superior natural fijado. En contraste, con el NaOCN, que produce un aumento en la afinidad de la hemoglobina, obtuvimos un efecto contrario.

ERITROPOYESIS

La exposición a hipoxia ambiental o simulada, hace que los animales genéticamente adaptados respondan con un ligero incremento de su hematocrito o sin incremento del mismo (Banchero y col., 1971; Brooks y Tenney, 1968; Hall, 1937; Reynafarje y col., 1968). Los camélidos sudamericanos, si bien tienen bajo hematocrito, poseen una alta concentración de hemoglobina intraeritrocitaria, lo que les confiere una mayor capacidad de transporte de oxígeno, por lo que no desarrollan incrementos significativos del hematocrito cuando son expuestos a hipoxia. Igualmente, Morrison y col (1963) han encontrado que varias especies de ratones nativos de altura no muestran evidencia de respuesta eritropoyética incrementada. En contraste, los animales considerados como no genéticamente adaptados, incluido el hombre, muestran eritrocitosis de diferentes grados, algunos de ellos desarrollan eritrocitosis tan excesivas que los llevan al MMC (Monge-M y Monge-C, 1968; Lenfant, 1973; Monge y Whittembury, 1976).

El NaOCN no incrementó significativamente la hemoglobina, ni en cobayos ni en ratas. Al respecto, hemos reportado previamente un incremento pronunciado de la Hb en ratones tratados con NaOCN por vía oral (Rivera-Ch y col., 1995). Teisseire y col. (1979; 1986) encontraron un incremento significativo de Hb en ratas tratadas. Sin embargo, Cerami y col. (1973) no encontraron cambios eritropoyéticos significativos en la mayoría de las especies animales tratadas con esta sustancia. Esta variedad en los resultados se puede deber a diferencias de respuesta existentes entre las especies, a diferencias debidas a la vía de administración, o al tiempo de administración del NaOCN, entre otros factores.

Los animales tratados con ácido fítico tampoco mostraron diferencias en su respuesta eritropoyética con respecto a los controles. La entrega de oxígeno a mayores valores de PaO₂ protegería contra la hipoxia tisular evitando la respuesta eritropoyética en los animales tratados con ácido fítico. No conocemos de estudios previos que hayan evaluado la respuesta eritropoyética en animales con baja afinidad Hb-O₂ inducida por ácido fítico.

RELACION ENTRE LA VENTILACION Y LA AFINIDAD Hb-O₂

Puesto que la ventilación, la afinidad Hb-O₂ y la eritropoyesis se comportan consistentemente de manera diferente en animales nativos y no nativos de altura, hemos estudiado conjuntamente estas variables en cobayos y ratas, enfatizando en la posible interdependencia o no entre afinidad y ventilación, comparando estas características específicamente en cobayos y ratas. El cobayo es un animal con el que es relativamente fácil de trabajar en condiciones experimentales, y existen diversos tipos de evidencia que apuntan hacia indicarlo como un animal genotípicamente adaptado a la altura. Los datos paleontológicos indican que los antecesores del cui llegaron al continente Sudamericano hace aproximadamente 30 millones de años. Se cree que los roedores Caviomorfos ancestrales inmigraron desde África hacia América aproximadamente entre la mitad y fines del Oligoceno, encontrándose pruebas de ello en la zona central de Chile (Wyss y col. 1993; Marshall, L. 1985; Savage B. 1993). Según estos autores, es probable que desde esta zona sus descendientes migraron a lo largo del continente americano. Uno de tales descendientes, mamífero roedor, el cobayo, ya se había distribuido ampliamente y por tanto había poblado los Andes, asistiendo de esta manera al levantamiento de los mismos. Este largo tiempo evolutivo ha sido suficiente para que este animal desarrolle cambios adaptativos a la vida en las grandes alturas. La rata en cambio, es un roedor que llegó al continente americano durante la conquista española (De Muizon, comunicación personal). En el

cobayo, dichas adaptaciones involucran cambios anatómicos, fisiológicos y bioquímicos (Bartels y col., 1979; Garayar 1989; Heath y col, 1995). Este animal, presenta de manera consistente una alta afinidad Hb-O₂ (Turek y col., 1980); esta característica permanece fija en animales que viven por mucho tiempo a nivel del mar. La rata, por el contrario, muestra un P50 alto (baja afinidad). Además, a diferencia del cobayo, desarrolla una eritrocitosis importante en respuesta a la hipoxia crónica (Turek y col., 1980). Si bien la rata puede aclimatarse a la altura, no es un animal genotípicamente adaptado.

Estudios previos dirigidos a establecer la interrelación entre respuesta ventilatoria hipoxica (RVH) y la afinidad Hb-O₂ han demostrado, en especies diferentes, que la RVH es baja cuando la afinidad Hb-O₂ es alta (Van Nice y col, 1980). Además, en comparaciones intraespecie (Birchard y Tenney, 1986), se ha reportado que ratas con un bajo P50 inducido por NaOCN muestran una RVH similar que las ratas controlas. Los autores concluyen que sus resultados parecen indicar que la afinidad Hb-O₂ y la RVH son propiedades interespecíficas.

Van Nice y col. (1980) realizaron un estudio comparativo en gatos, ratas, llamas, patos pekineses y gansos de los Himalayas. Estos autores hallaron que el «umbral» para un primer incremento significativo de la ventilación pareció ser bajo si la afinidad Hb-O₂ de la hemoglobina era alta. Adicionalmente, se ha propuesto que hay una correlación entre la afinidad Hb-O₂ y la respuesta ventilatoria a la hipoxia (RVH) y que las relaciones entre afinidad Hb-O₂ y RVH son una propiedad interespecífica (Van Nice y col., 1980; Boggs y Birchard, 1983; Birchard y Tenney, 1986). En nuestro estudio, los cobayos muestran una ventilación hipoxica (VH) menor comparada con la de las ratas, tanto antes como después de la administración de NaOCN. Se observa además una VH menor en los animales con alta afinidad Hb-O₂ inducida por NaOCN.

Nuestro equipo ha extendido dichos estudios con el objetivo básico de evaluar la posible relación entre la afinidad Hb-O₂, modificada exógenamente, y la respuesta ventilatoria a la hipoxia en ratas y cobayos, haciendo comparaciones intraespecie entre cobayos y ratas tratados con NaOCN o ácido fítico y sus respectivos controles sin exposición a dichos agentes farmacológicos. En cada caso, tanto con NaOCN como con ácido fítico, se determinó específicamente la respuesta ventilatoria a la hipoxia, la respuesta eritropoyética y la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno (afinidad Hb-O₂) en ambas especies tratadas. Adicionalmente, decidimos evaluar la respuesta ventilatoria hipoxica (medida por pletismografía) frente a exposiciones a grados de hipoxia más severa, de

hasta 43 torr de PO₂, en cobayos nativos de altura tratados con NaOCN y ácido fítico y en sus respectivos controles, para evaluar la relación entre las modificaciones de la afinidad en uno y otro sentido y la respuesta ventilatoria.

Debemos remarcar que obtuvimos de manera consistente valores menores de inicio de ventilación, concentración de hemoglobina y P50 en cobayos, en comparación con las ratas.

En el caso de los experimentos con NaOCN, la alta afinidad Hb-O₂ experimentalmente inducida en ambos grupos de animales (con una disminución significativamente menor de la P50 en cobayos), no modificó la RVH de cobayos ni de ratas cuando se las hizo respirar mezclas con 11% de oxígeno en nitrógeno, en comparación con los controles de su misma especie. En cambio, al hacer las comparaciones interespecie, al mismo nivel de hipoxia aguda, la RVH fue significativamente menor en cobayos tratados con NaOCN que en ratas tratadas con el agente por tres semanas.

Cuando se realizaron los estudios con ácido fítico, la P50, como se mencionó antes, incrementó significativamente más en cobayos que en ratas. Al hacer las comparaciones intraespecie, los cobayos con baja afinidad inducida por el ácido fítico no modificaron su RVH significativamente. Por otra parte, el porcentaje de cambio en la ventilación fue de 32% en cobayos control y 39% en cobayos tratados (diferencia no significativa, mientras que el porcentaje de cambio fue 56% en ratas control y 44% en ratas tratadas, diferencia tampoco significativa). Sin embargo, al hacer las comparaciones interespecie, al mismo nivel de hipoxia aguda (11% de oxígeno en nitrógeno), la RVH fue significativamente menor en cobayos tratados con ácido fítico que en ratas tratadas con el mismo agente farmacológico (fig 2).

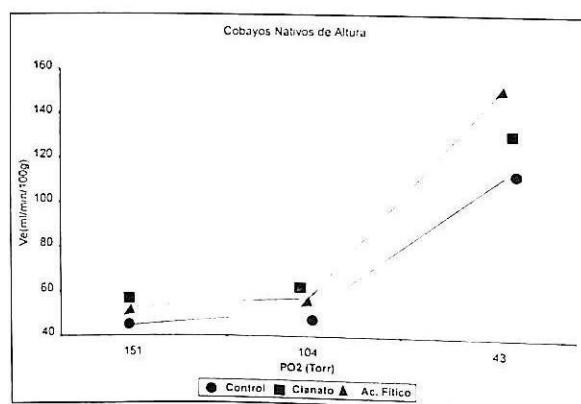


Figura 2

Un estudio adicional que se desprendía de los anteriores se relacionaba con la evaluación de la RVH en animales con afinidad modificada, pero enfrentados a grados más severos de hipoxia aguda. La comparación con la rata no fue factible debido a que estos animales no toleraron la exposición a mezclas hipoxicas con concentraciones más bajas de oxígeno que las usadas en los estudios previos. Así, estudiamos la ventilación frente a diversas concentraciones de oxígeno en cobayos nativos de altura tratados con ácido fítico o cianato y sus respectivos controles. Decidimos utilizar cobayos nativos de altura para evaluar la hipótesis de que el umbral de incremento de la ventilación en estos animales es mayor que en los cobayos de nivel del mar. Nuestros resultados en este último estudio (Rivera-Ch, datos no publicados) muestran que en cobayos nativos de altura, el volumen espiratorio no difiere significativamente en los controles y los tratados con NaOCN cuando respiran mezcla normoxica (PO_2 151 torr), aire ambiental hipoxico (PO_2 104 torr) y mezcla hipoxica (PO_2 43 torr). Los cobayos tratados con ácido fítico que respiran una mezcla hipoxica de 43 torr muestran una respuesta hiperventilatoria, pero no los controles. La inducción experimental de baja afinidad en un animal que tiene caracteristicamente alta afinidad resulta en hiperventilación frente a un bajo PO_2 (fig 3). Esto se debe probablemente a una alteración en la homeostasis del transporte de oxígeno.

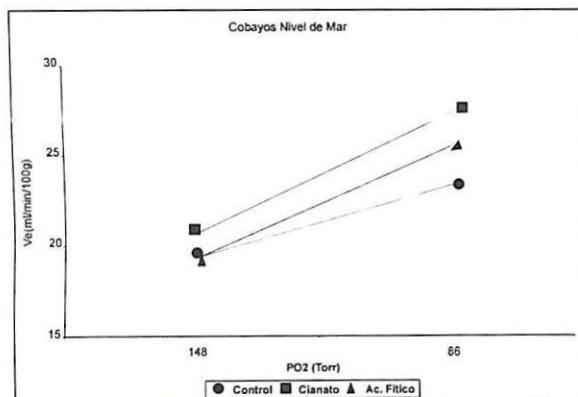


Figura 3

Los hallazgos anteriores nos permiten concluir que la afinidad Hb-O₂ y la ventilación parecen comportarse como dos variables fisiológicas más o menos independientes, es decir, que la alta o baja afinidad experimentalmente inducidas no modifican de manera importante la RVH.

Igualmente, los valores basales de ventilación, hemoglobina y P50 fueron consistentemente menores en cobayos que en ratas. Además, los cambios de P50 y de RVH a la hipoxia fueron comparativamente menores en cobayos que en ratas. Estos datos parecen corroborar la idea de que el cobayo es un animal

genéticamente adaptado, que utiliza limitadamente estrategias extracelulares de transporte de oxígeno para optimizar su captación de oxígeno del ambiente o para optimizar su entrega en los tejidos, sino que muy probablemente recurre a mecanismos celulares para utilizar de manera más eficiente el poco oxígeno disponible en condiciones de hipoxia ambiental.

REFERENCIAS

- Banchero N, Grover RF, Will JA.** Oxygen transport in the llama. *Respir Physiol* 1971;13:102-115.
- Barclay, A.** Pérdida de la sensibilidad de los quimiorreceptores de oxígeno en ratones de altura, comparación con el humano. (Tesis de Bachiller en Biología). Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia, 1982.
- Barer GR, Edwards CW, Jolly AI.** Changes in the carotid body and the ventilatory response to hypoxia in chronically hypoxic rats. *Clin Sci Mol Med* 1976; 50:311-313.
- Barker JN.** Role of hemoglobin oxygen affinity and concentration in determining hypoxia tolerance of mammals during infancy, hypoxia, hyperoxia and irradiation. *Am J Physiol* 1957; 189:281-289.
- Barrie E, Heath D, Arias-Stella J, Harris P.** Enzyme activities in red and white muscles of guinea pigs and rabbits indigenous to high altitude. *Envir Physiol Biochem* 1975; 5: 18-26.
- Bartels H, Bartels R, Rathschlag-Schafeer AN, Robel H, Ludders S.** Acclimatization of newborn rats and guinea pigs to 3000 to 5000 m simulated altitudes. *Resp Physiol* 1979; 36:375-389.
- Benesch RE, Benesch R, Renthal RD, Maeda N.** Affinity labeling of the polyphosphate binding site of hemoglobin. *Biochemistry* 1972; 11:3576-3582.
- Birchard GF, Tenney SM.** The hypoxic ventilatory response in rats with increased blood oxygen affinity. *Respir Physiol* 1986; 66:225-233.
- Blake, CI, Banchero N.** Effects of cold and hypoxia on ventilation and oxygen consumption in awake guinea pigs. *Respir Physiol* 1985; 61:357-368.
- Boggs DF, Birchard GF.** Relationship between haemoglobin affinity and the ventilatory response to hypoxia. *J Exp Biol* 1983; 102:347-352.
- Boggs DF.** Hypoxic ventilatory control and hemoglobin oxygen affinity. In: Sutton JR, Houston CS, Coates G eds. *Hypoxia and the Brain*. Queen City Printers Inc. Burlington, Vermont, 1995;69-86.

- Bouverot P.** Ventilatory adaptations. In: Franer DS, Heinrich B, Johansen K, Langer H, Neuweiller G, Randall DJ, eds. *Adaptation to Altitude-Hypoxia in Vertebrates*. Springer-Verlag, Berlin, 1985:35-60.
- Bullard RW.** Vertebrates at altitude. In: Yousef MK, Horvath SM, Bullard RW, eds. *Physiological Adaptations: Desert and Mountain*. Academic Press, New York. 1972: 209-225.
- Burggren W., McMahon B., Powers D.** Respiratory functions of blood. In: Prosser CL, ed. *Comparative Animal Physiology*. Wiley-Liss, New York 1991:437-508.
- Cerami A, Allen TA, Graziano JH, De Furia FG, Manning JM, Gillette PN.** Pharmacology of cyanate. I. General effects on experimental animals. *J Pharmacol Exp Ther* 1973; 185:653-666.
- Dejours P.** *Principles of Comparative Respiratory Physiology*. North-Holland Publishing Company, Amsterdam, 1975;21-30.
- Eaton JW, Skelton TD, Berger EM.** Survival at extreme altitude: protective effect of increased hemoglobin-oxygen affinity. *Science* 1974; 183:743-744.
- Edwards MJ, Martin RJ.** Mixing technique for the oxygen-hemoglobin equilibrium and Bohr effect. *J Appl Physiol* 1966; 21:1898-1902.
- Fukuda Y, Kimura H, Kobayashi T, Mikami M, Kuriyama T.** Protection of hypoxic ventilatory depression by administration of Na-cyanate or progesterone in the rat. 1988. In: Ueda G, Kusama S, Voelkel NF, eds. *High Altitude Medical Science*. The Shinshu University, Japan, 1988:234-238.
- Garayar VD.** Auxología, endocrinología y morfometría del cobayo (*Cavia aperea*). (Tesis Maestría) Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia, 1989.
- Hall FG.** Adaptations of mammals to high altitude. *J Mammals* 1937; 18:468-472.
- Heath., Williams.,** High-altitude Medicine and Pathology. Fourth edition. Oxford University Press. 1995 pp. 403-423.
- Hochachka PW, Stanley C, Merkt J, Sumar-Kalinowski J.** Metabolic meaning of elevated levels of oxydative enzymes in high altitude adapted animals: an interpretive hypothesis. *Respir Physiol* 1982; 52:303-313.
- Hochachka PW.** The Monge legacy: learning from hypoxia adapted animals and man. In: León-Velarde F, Arregui A, eds. *Hipoxia: Investigaciones Básicas y Clínicas*. Homenaje a Carlos Monge Cassinelli. Tomo 76 de la serie *Travaux de l'Institut Français d'Etudes Andines*, Lima, Peru, 1993:361-374.
- Lenfant C.** High altitude adaptation in mammals. *Am Zool* 1973; 13:447-456.
- MacFadden B.J., Wang Y., Cerling T. E. Anaya F.** South American fossil mammals and carbon isotopes: a 25 million-year sequence from the Bolivian Andes. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, palaeoecology*. 1994;107.
- Marshall L.G.** Geochronology and land-mammal biochronology of the transamerican faunal interchange. In Stehli F.G. and Webb D., eds. *The Great American Biotic Interchange*. Topics in geobiology. Plenum Press. New York and London, 1985; 4:49-85.
- Monge-C.C., León-Velarde F.** Physiological adaptation to high altitude: oxygen transport in mammals and birds. *Physiol Rev* 1991; 71:1135-1172.
- Monge-C C, Whittembury J.** High altitude adaptation in the whole animal. In: Bligh J, Cloudsley-Thompson JL, Macdonald AG, eds. *Environmental Physiology of Animals*. Blackwell Scientific Publications, London, 1976:289-308.
- Monge-C C.** Medical research in the Andes. *Ann Sports Med* 1988; 4:245-254.
- Monge-M, Monge-C.** Adaptation to high altitude. In: Hafez ESE ed. *Adaptation of Domestic Animals*. Lea and Febiger, Philadelphia. 1968;194-201.
- Morrison PR, Kerst K, Reynafarje C, Ramos J.** Hematocrit and hemoglobin levels in some Peruvian rodents from high and low altitude. *Int J Biometeorol* 1963; 7:51-58.
- Muñoz MS.** Respuesta sanguínea de las presiones parciales de oxígeno y anhídrido carbónico al estímulo de la hipoxia aguda, comparación entre ratones aclimatados a hipoxia hipobárica y controles normóxicos. Tesis de Maestría en Ciencias. Lima. Universidad Peruana Cayetano Heredia, 1983
- Ochiai T, Toshio G, Shikama K.** Effect of intracellular organic phosphates on the oxygen equilibrium curve of chicken hemoglobin. *Arch Biochem Biophys* 1972; 149: 316-322.
- Perutz MF, Poyart C.** Bezafibrate lowers oxygen affinity of haemoglobin. *Lancet* 1983; 2: 881-882.
- Prosser CL.** Oxygen: Respiratory functions of blood. In: Prosser CL, ed. *Comparative Animal Physiology*. W.B. Saunders, Philadelphia, London, Toronto, 1973:317-361.

Reynafarje B. Pyridine nucleotide oxidases and transhydrogenase in acclimatization to high altitudes. *Am J Physiol* 1961; 200: 351-353.

Reynafarje C, Faura J, Paredes A, Villavicencio D. Erythrokinetics in high altitude adapted animals (llama, alpaca, vicuña). *J Appl Physiol* 1975;38:806-810.

Rivera-Ch M, Dunin-Borkowski F, León-Velarde F, Huicho L, Vargas M, Monge-C C. Metabolic effects on cyanate on mice at sea level and in chronic hypobaric hypoxia. *Life Sci* 1991; 49: 439-445.

Rivera-Ch M, León-Velarde F, Huicho L, Monge-C C. Time-course of the polycytemic response in normoxic and hypoxic mice with high blood oxygen affinity induced by cyanate administration. *J Comp Physiol B* 1995, 164:659-662.

Rivera-Ch M, León-Velarde F, Huicho L, Monge-C C. Ventilatory response to severe acute hypoxia in guinea-pigs and rats with high hemoglobin-oxygen affinity induced by cyanate. *Comp Biochem Physiol* 1994;109A:675-680.

Rivera-Ch M, León-Velarde F, Huicho L, Monge-C C. Ventilatory response to severe acute hypoxia in guinea pigs and rats with low hemoglobin-oxygen affinity induced by phytic acid. *Comp Biochem Physiol* 1994; 112A:412-416.

Rivera-Ch M, León-velarde F, Huicho L. Sodium cyanate: from a promising therapeutic agent to a research tool in high altitude physiology. *Biol Res* 1996;29:167-176.

Scheid, P, Meyer M. Mixing technique for the study of oxygen-hemoglobin equilibrium : a critical evaluation. *J Appl Physiol* 1978; 45: 818-822.

Schmidt-Nielsen K, Larimer JL. Oxygen dissociation curves of mammalian blood in relation to body size. *Am J Physiol* 1958; 195: 424-428.

Schmidt-Nielsen K. Animal Physiology. Adaptation and Environment. Cambridge University Press, Cambridge 1990;192-200.

Shumacker, PT, Suggett AJ, Wagner PD, West JB. Role of hemoglobin P50 in O₂ transport during normoxic and hypoxic exercise in the dog. *J Appl Physiol* 1985; 59: 749-57.

Sime, F.J. Ventilación humana en hipoxia crónica. Etiopatogenia de la enfermedad de Monge o desadaptación crónica a la altura. (Tesis Doctoral) Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia. 1973.

Teisseire B, Vieilledent C, Teisseire L, Vallez M, Herigault R, Laurent D. Chronic sodium cyanate treatment induces «hypoxia like» effects in rats. *J Appl Physiol* 1986; 60:1145-1149.

Teisseire BP, Soulard CD, Herigault R, LeClerc LF, Laver MB. Effects of chronic changes in hemoglobin-O₂ affinity in rats. *J Appl Physiol* 1979; 46:816-822.

Tenney SM. Functional significance of differences of mammalian hemoglobin affinity for oxygen. In: Sutton JR, Houston CS, Coates G eds. Hypoxia and the Brain. Queen City Printers Inc. Burlington, Vermont, 1995;57-68.

Turek Z, Rakusan K. Computer model analysis of myocardial tissue oxygenation: a comparison of high altitude guinea-pig and rat. In: León-Velarde F, Arregui A, eds. Hipoxia: Investigaciones Básicas y Clínicas. Homenaje a Carlos Monge Cassinelli. Tomo 76 de la serie Travaux de l'Institut Francais d'Etudes Andines, Lima, Peru, 1993:141-153.

Turek Z, Ringnalda BEM, Morán O, Kreuzer F. Oxygen transport in guinea pigs native to high altitude (Junín, Perú, 4,105 m). *Pfluegers Arch* 1980; 384:109-115.

Turek, Z, Kreuzer F, Ringnalda BEM. Blood gases at several levels of oxygenation in rats with a left-shifted blood oxygen dissociation curve. *Pfluegers Arch* 1978; 376:7-13.

Turek, Z, Kreuzer F, Turek-Maischeider M, Ringnalda BEM. Blood O₂ content, cardiac output, and flow to organs at several levels of oxygenation in rats with a left-shifted blood oxygen dissociation curve. *Pfluegers Arch* 1978; 376:201-207.

Van Nice P, Black CP, Tenney SM. A comparative study of ventilatory responses to hypoxia with reference to hemoglobin O₂ affinity in llama, cat, rat, duck and goose. *Comp Biochem Physiol* 1980; 66:347-350.

Vandecasserie C, Paul C, Schnek AG, Leonis J. Oxygen affinity of avian hemoglobins. *Comp Biochem Physiol* 1973; 44:711-718.

Vandecasserie C, Schnek AG, Lonis J. Oxygen-affinity studies of avian hemoglobins. Chicken and pigeon. *Eur. J Biochem* 1971; 24:284-287.

Weiner M, Franco RS. Incorporation of phytic acid into erythrocytes and its medical use. In: Graf E, ed. Phytic Acid Chemistry and Applications. Pilatum Press, Minneapolis, 1986:249-264.

Wyss A.R., Flynn J.J., Norell M.A., Swisher III C.C., Charrier R., Novacek M. McKenna M. South America's earliest rodent and recognition of a new interval of mammalian evolution. *Nature* 1993; 365:434-437.