

Rev Inv Vet Perú 2012; 23(1): 1-12

ROL DEL ÓXIDO NÍTRICO EN LA HIPERTROFIA ARTERIOLAR PULMONAR Y VENTRICULAR CARDIACA DERECHA EN POLLOS A NIVEL DEL MAR Y EXPUESTOS A HIPOXIA DE LA ALTURA

THE ROLE OF NITRIC OXIDE IN PULMONARY ARTERIOLAR AND RIGHT HEART VENTRICLE HYPERTROPHY IN CHICKENS AT SEA LEVEL AND EXPOSED TO HIGH ALTITUDE HYPOXIA

María Vásquez C.^{1,2}, Sergio Cueva M.¹, Boris Lira M.¹, Milder Ayón S.¹, José Rodríguez G.¹, Pedro Angulo H.³, Néstor Falcón P.⁴

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar los valores de nitritos y nitratos, metabolitos estables del óxido nítrico (ON), y su correlación con el grado de hipertrofia arteriolar pulmonar en aves sometidas a hipoxia ambiental. Se emplearon 135 aves machos de la línea Cobb-Vantres, nacidos a nivel del mar. De estas, 120 fueron divididos en dos grupos: 60 aves criadas a nivel del mar (NM) y 60 aves criadas en altura a 3320 msnm (A), en tanto que las 15 aves restantes fueron sacrificadas al primer día de edad. Quince aves seleccionadas al azar de cada grupo fueron sacrificadas a los 10, 20, 30 y 40 días de edad. Se determinó el peso corporal (PC), hematocrito (Ht), nitritos y nitratos, relación capa muscular/diámetro arteriolar pulmonar (CM/DA), relación peso del ventrículo derecho/peso total del ventrículo (VD/VT), y relación peso ventrículo derecho/peso corporal (VD/PC). El PC fue mayor a NM que en A ($p < 0.05$), mientras que el Ht fue mayor en A que a NM ($p < 0.05$). Los niveles de nitritos y nitratos a NM fueron similares en todas las edades, mientras que en A se observó una disminución a los 20 días y un aumento a los 30 días ($p < 0.05$). En ambos grupos se observó un proceso de muscularización de las arteriolas pulmonares con la edad. Las relaciones VD/VT y VD/PC mostraron una hipertrofia ventricular derecha en las aves sometidas a hipoxia. Se encontró una correlación significativa entre los niveles de nitritos y nitratos en los diferentes tiempos de exposición a la hipoxia con las relaciones CM/DA, VD/VT y VD/PC. Se concluye que las variaciones en la producción del ON afecta el desarrollo de la musculatura lisa de las arteriolas pulmonares, produciendo una hipertrofia cardiaca derecha como mecanismo compensatorio.

Palabras clave: óxido nítrico, síndrome ascítico, hipertrofia cardiaca, hipertrofia arteriolar pulmonar, pollos

¹Laboratorio de Fisiología Animal, ³Laboratorio de Farmacología y Toxicología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima

²E-mail: evasquezc@gmail.com

⁴Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the nitrites and nitrates concentration, stable metabolites of NO, and its correlation with the degree of pulmonary arteriole hypertrophy in chickens raised at environmental hypoxia. A total of 135 Cobb-Vantres male chickens, born at sea level were used. Of this, 60 chicks raised at sea level (SL), and 60 at high altitude (A), 3230 m above sea level; while the remaining 15 birds were slaughtered at 1 day of age. Fifteen 15 chicks per group were randomly selected and slaughtered at 10, 20, 30 and 40 days of age. It was determined body weight (BW), hematocrite (Ht), nitrites and nitrates, muscular wall/arteriolar diameter (CM/DA) ratio, right ventricle weight/total ventricle weight ratio (RV/TV), and right ventricle weight/body weight ratio (RV/BW) ratio. BW was greater at SL than at A ($p < 0.05$), whereas Ht was greater in A than at SL ($p < 0.05$). The nitrites and nitrates levels at SL were similar at all ages, whereas at A decreased at 20 days and increased at 30 days ($p < 0.05$). A process of muscularization in the pulmonary arterioles was observed in relation to age in both groups. The RV/TV and RV/BW ratios showed a right cardiac hypertrophy in chickens raised under hypoxia. There was a significant correlation between levels of nitrites and nitrates at different times of exposition to hypoxia with MW/AD, RV/TV and RV/BW ratios. It is concluded that variations in the production of NO directly affect the proliferation of smooth muscle of pulmonary arterioles conducting to a compensatory right cardiac hypertrophy.

Key words: nitric oxide, ascitic syndrome, cardiac hypertrophy, pulmonary arteriolar hypertrophy, chickens

INTRODUCCIÓN

La avicultura en el Perú alcanza el 57% del PBI pecuario, siendo la producción de pollos parrilleros de la línea Cobb-Vantres la de mayor cobertura, con una distribución del 80% de la población de pollos en el país, debido a su mejor adaptación y rendimiento productivo (MINAG, 2005); sin embargo, la presión de la selección genética sumado al consumo de raciones altamente energéticas y proteicas para satisfacer los requerimientos nutricionales la hace susceptible de presentar enfermedades cardiovasculares y metabólicas que pueden desencadenar en el síndrome ascítico (Al-Homidan *et al.*, 2003; Druyan *et al.*, 2008).

La presentación del síndrome de hipertensión arterial pulmonar (HAP), causante del síndrome ascítico (SA) y muerte súbita es frecuente en pollos de carne (Julián y Díaz, 1999), y está considerado como uno de los principales problemas que enfrenta la

avicultura moderna (Maxwell y Robertson, 2001), incluyendo el caso específico de la avicultura comercial peruana (Francia, 2006).

La hipoxia favorece el cuadro de HAP y SA, los cuales se caracterizan por un incremento de la resistencia al flujo sanguíneo en la circulación arteriolar pulmonar, que conduce a una hipertensión arterial pulmonar (Will *et al.*, 1962; Ayón y Cueva, 1998; Cueva *et al.*, 2004), dificultad del retorno venoso, hipertrofia del ventrículo derecho (VD) y, en la mayoría de los casos, insuficiencia cardiaca derecha que culmina con la muerte del ave (Maxwell y Robertson, 2000). El SA suele presentarse a partir de la tercera semana de edad, es más frecuente en machos (Hernández, 1986; Francia, 2006), y tiene una alta correlación con la velocidad de crecimiento del ave (Roush y Wideman, 2000). El desencadenamiento del proceso es de tipo multifactorial, incluyendo aspectos genéticos, nutricionales, tóxicos, sanitarios y ambientales (Wideman, 2000; Francia, 2006).

La HAP es el resultado del estrechamiento del lumen de las arteriolas pulmonares debido a vasoconstricción, hipertrofia e hiperplasia de células musculares lisas de las arteriolas pulmonares (Archer y Michelakis, 2002; Bradbury *et al.*, 2002); además, las células endoteliales juegan un rol importante en el desarrollo de la HAP (Veysier-Belot y Cacoub, 1999). En hipoxia aguda es el resultado del incremento del tono del músculo liso y de la policitemia (Ge *et al.*, 2002; Vogel *et al.*, 2003), mientras que en hipoxia crónica es debida principalmente a la remodelación estructural de las arteriolas pulmonares distales (Roberts *et al.*, 1995; Weissmann *et al.*, 2001; Yang *et al.*, 2002).

Por otro lado, las células endoteliales hipóxicas incrementan la inducción de citoquinas inflamatorias, que constituyen un estímulo para la quimiotaxis leucocitaria y leucostasis tisular a partir de macrófagos alveolares (Karakurum *et al.*, 1994). En todo este proceso se generan especies reactivas del oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) que actúan como elementos señaladores, regulando la secreción de citoquinas proinflamatorias que permiten la alteración de la permeabilidad endotelial (Ali *et al.*, 1999); es decir, incrementan la permeabilidad de la membrana de la célula muscular lisa al sodio induciendo su despolarización, produciendo una vasoconstricción que culmina con una hipertensión arterial pulmonar. En todo este proceso, el óxido nítrico (ON) cumple una función reguladora del tono vascular, ejerciendo su acción en las células musculares lisas donde provoca un aumento del guanosin monofosfato cíclico (GMPc), con la consiguiente vasodilatación (Schechter y Gladwin, 2003).

Schilling *et al.* (1994) y Forte *et al.* (1997), encontraron una disminución en la cantidad de ON endógeno del aire exhalado por pacientes hipertensos y una disminución en los niveles sanguíneos de ON, siendo una

posible causa de la disminución la activación de inhibidores endógenos de la óxido nítrico sintasa (NOS), tales como la metil arginina. Esta reducción en la síntesis de ON puede contribuir al incremento en la adhesión y agregación plaquetaria, en la quimiotaxis de monocitos y su adhesión endotelial, en las respuestas vasoconstrictoras, así como en la migración y proliferación de células del músculo liso vascular; eventos que están relacionados estrechamente a la HA con la aparición de hipertrofia vascular y enfermedad vascular oclusiva (Forte *et al.*, 1997), lo cual también está relacionado a una disminución de NOS endotelial (Moreno de Sandino y Hernández, 2006).

Actualmente, no existen estudios sobre ON y su relación con los cuadros de hipertrofia arteriolar pulmonar y cardíaca en aves, por lo que se planteó el presente estudio con el objetivo de determinar los valores de nitritos y nitratos, metabolitos estables del ON, y su correlación con el grado de hipertrofia arteriolar pulmonar en aves sometidas a hipoxia ambiental.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de Ejecución

El estudio se llevó a cabo a nivel del mar, en el Laboratorio de Fisiología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, y en la Unidad del Centro de Diagnóstico de Sanidad Animal del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA), en la ciudad de Lima (presión barométrica de 750 mmHg, presión parcial de oxígeno de 157 mmHg), y en la Estación Experimental del Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura (IVITA), distrito de El Mantaro, Junín, a una altitud de 3320 m (presión barométrica de 510 mmHg, presión parcial de oxígeno de 107 mmHg).

Animales

Se trabajó con 200 aves de engorde, machos, de la línea Cobb-Vantres, nacidas a nivel del mar, procedentes de un solo lote de reproductoras.

Las aves se distribuyeron en dos grupos experimentales: Grupo nivel del mar (NM) con 60 aves y Grupo Altura (A) con 60 aves, el cual fue trasladado a 3320 m de altitud a los 2 días de edad, y 15 aves fueron sacrificadas al inicio del estudio (un día de edad). Además, 25 y 50 aves quedaron como posibles reemplazos en caso de muertes para los grupos MN y A, especialmente en el grupo de animales criados en altura.

Quince aves de cada grupo fueron seleccionadas al azar a las edades de 10, 20, 30 y 40 días para la determinación de las siguientes variables: peso corporal, hematocrito, niveles plasmáticos de nitritos y nitratos, relación capa media/diámetro de arteriolas pulmonares (CM/DA), relación ventrículo derecho/ventrículo total (VD/VT) y relación ventrículo derecho/peso corporal (VD/P).

Las aves fueron criadas según los estándares establecidos para la crianza de aves de la línea, manteniendo condiciones similares de temperatura, alimento, tipo de cama, y ventilación a nivel del mar y en la altura.

Parámetros Fisiológicos

Se determinó el peso corporal en los días 1, 10, 20, 30 y 40 de edad utilizando una balanza de precisión (2 kg x 0.1 g). A las aves de un día de edad se les tomó una muestra de sangre (1.5 ml) por punción cardiaca, en tanto que a las aves de mayor edad se les colectó 5.5 ml de sangre por punción alar. La sangre se colectó en tubos conteniendo heparina sódica.

En las muestras de sangre se determinó el hematocrito mediante la técnica de microhematocrito (Benjamin, 1991), y la con-

centración de nitritos y nitratos, productos estables del óxido nítrico, mediante el método de Griess (Green *et al.*, 1982; Miranda *et al.*, 2001), utilizando un espectrofotómetro a una longitud de onda de 520-550 nm.

Las aves fueron sacrificadas por desarticulación occípito atloidea. Se extrajo el corazón, separándolo del pericardio, y se removió la grasa pericárdica, las aurículas y las válvulas. Se pesó el ventrículo total (VT) y seguidamente se le dividió en ventrículo derecho (VD) y ventrículo izquierdo (VI), quedando el septum en la porción izquierda. Se registró el peso de cada sección, utilizando una balanza analítica digital de precisión (10 g x 0.0001 g). Con los valores obtenidos se estableció la relación ventrículo derecho/ventrículo total (VD/VT) y la relación ventrículo derecho/peso corporal (VD/PC).

Se determinó, además, la relación capa muscular/diámetro arteriolar (CM/DA) de las arteriolas pulmonares para medir su grado de muscularización. Para esto, luego de colectados los corazones, se procedió a remover los pulmones, tomando una muestra de 2 x 2 x 2 cm en formol buferado al 10%, en una proporción de una de tejido por diez de formol para su procesamiento histológico (AFIP, 1995) empleando hematoxilina fosfotúngstica de Mallory (Montalvo *et al.*, 1979). Se identificó 10 arteriolas por ave, las cuales presentaban íntima, subendotelio, capa media y adventicia (Fig. 1a), con diámetros externos de 35 a 220 micras. A cada arteriola se le midió el diámetro externo y el grosor de la capa muscular (Fig. 1b) para establecer la relación CM/DA.

Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico se usó el software SPSS 15.00. Se utilizó la prueba de "t" Student para comparar los valores de los dos tratamientos de una misma edad, con un poder de prueba de 80% y un nivel de significancia de 95%. Para evaluar el efecto del tiempo de exposición se comparó los resultados de diferentes edades con la prueba

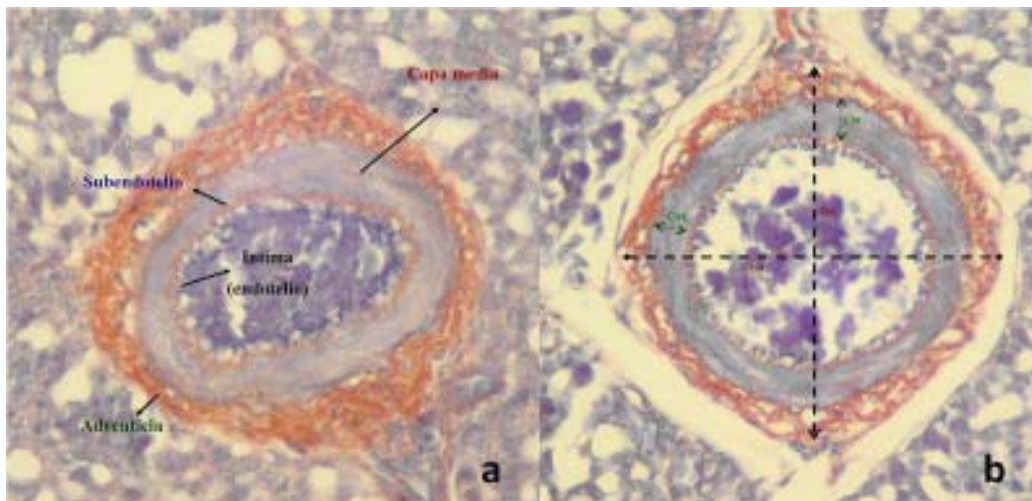


Figura 1. Arteriolas pulmonares de aves Cobb-Vantres. a) Componentes de las arteriolas; b) Medición de arteriolas pulmonares

de Tukey. Además, se empleó la prueba de regresión múltiple para determinar el efecto de las variables independientes altitud, edad y concentración de nitritos/nitratos sobre las variables dependientes CM/DA, VD/VT y VD/PC.

RESULTADOS

El peso corporal de las aves criadas a nivel del mar fue superior al peso obtenido en la altura ($p < 0.05$), siendo esta diferencia mucho más notoria a los 30 y 40 días de edad (Cuadro 1). Asimismo, el hematocrito en aves de un día de edad fue relativamente más bajo que en otras edades; sin embargo, las medias fueron similares entre los 10 y 40 días de edad en las aves criadas a nivel del mar; en tanto que en las aves en la altura, el hematocrito se incrementó a partir de los 20 días de edad en relación al valor encontrado a los 10 días de edad ($p < 0.05$, Cuadro 1).

Los valores de hematocrito fueron estadísticamente mayores en las aves criadas en la altura a partir de los 10 días de edad ($p < 0.05$), y estos valores son compatibles con cuadros de policitemia.

Los niveles de nitritos y nitratos al primer día de edad estuvieron por debajo de los niveles mínimos detectables. Posteriormente, los valores obtenidos fueron similares en todas las edades a nivel del mar, mientras que se observó un comportamiento irregular de los nitritos y nitratos, siendo superiores a los 10 y 30 días de edad ($p < 0.05$) e inferior a los 20 días de edad ($p < 0.05$) en relación a los pollos criados a nivel del mar (Cuadro 2).

La relación CM/DA tuvo un comportamiento creciente con la edad ($p < 0.05$), pero sin diferencias estadísticas entre grupos a una misma edad (Cuadro 2). La relación VD/VT fue estadísticamente diferente entre los dos grupos de aves a partir del día 10 de edad ($p < 0.05$) (Cuadro 3), indicando un posible cuadro de hipertrofia ventricular derecha por hipoxia ambiental. Asimismo, el incremento de esta relación por efecto de la edad se observó en ambos grupos, siendo más notorio en las aves criadas en la altura donde se pudo observar hasta los 30 días de edad ($p < 0.05$). El comportamiento de la relación VD/PC fue relativamente similar aunque menos marcado (Cuadro 3).

Cuadro 1. Peso corporal (g) y hematocrito (%) de aves Cobb-Vantres (n = 15 aves por grupo) criadas a nivel del mar y en altura (3320 msnm)

Días	Peso corporal (g)		Hematocrito (%)	
	Nivel del mar	Altura	Nivel del mar	Altura
1	56 ^a ± 3	56 ^a ± 3	23.8 ^{a1} ± 2.1	23.8 ^{a1} ± 2.1
10	186 ^a ± 21	112 ^b ± 9	29.5 ^{a2} ± 2.2	34.1 ^{b2} ± 4.6
20	699 ^a ± 71	406 ^b ± 32	29.1 ^{a2} ± 2.2	41.5 ^{b3} ± 4.4
30	1503 ^a ± 180	934 ^b ± 114	28.7 ^{a2} ± 1.7	39.8 ^{b3} ± 4.4
40	2620 ^a ± 239	1717 ^b ± 223	28.1 ^{a2} ± 2.7	42.7 ^{b3} ± 5.0

^{a,b} Letras diferentes dentro de cada variable y edad indican diferencia estadística (p<0.05)

^{1,2,3} Números diferentes dentro de cada variable indican diferencia estadística (p<0.05)

Cuadro 2. Valores de nitritos y nitratos (µmol) y relación capa muscular/diámetro arteriolar (CM/DA) de arteriolas pulmonares en aves Cobb-Vantres (n = 15 aves por grupo) criadas a nivel del mar y en altura (3320 msnm)

Días	Nitritos y nitratos (µmol)		CM/DA	
	Nivel del mar	Altura	Nivel del mar	Altura
1	0.00 ^{a1} ± 0.0	0.00 ^{a1} ± 0.00	0.107 ^{a1} ± 0.026	0.107 ^{a1} ± 0.026
10	0.74 ^{a2} ± 0.15	0.80 ^{a3} ± 0.18	0.114 ^{a1,2} ± 0.004	0.116 ^{a1,2} ± 0.004
20	0.80 ^{a2} ± 0.23	0.51 ^{b2} ± 0.18	0.128 ^{a2} ± 0.010	0.128 ^{a2,3} ± 0.008
30	0.88 ^{a2} ± 0.20	1.21 ^{b4} ± 0.27	0.143 ^{a3} ± 0.009	0.137 ^{a3,4} ± 0.006
40	0.79 ^{a2} ± 0.07	0.75 ^{a3} ± 0.24	0.147 ^{a3} ± 0.010	0.147 ^{a4} ± 0.012

^{a,b} Letras diferentes dentro de cada variable y edad indican diferencia estadística (p<0.05)

^{1,2,3,4} Números diferentes dentro de cada variable indican diferencia estadística (p<0.05)

La prueba de regresión múltiple demostró que las variables independientes altitud, edad y concentración nitritos y nitratos influyeron sobre la relación VD/VT. En el caso de la relación VD/PC, la variable edad no mostró influencia. Para la relación CM/DA, las variables altitud y concentración nitrato y nitratos no influyeron sobre la variable dependiente. En todos los casos los modelos de regresión resultaron significativos. El resumen de esta información, además de los valores de los coeficientes de correlación y determinación múltiples se presenta en el Cuadro 4.

DISCUSIÓN

El promedio de peso obtenido en el presente estudio a nivel del mar se encuentra dentro del rango de pesos esperados para la línea Cob-Vantres (Cobb, 2008). Asimismo, fueron similares a los promedios reportados a nivel del mar (3235 g) y en altura (1961 g) a los 41 días de edad en otro estudio realizado en el país (Vidalón, 2007). Por otro lado, Peña (2001), en pollos de carne de la línea Arbor Acres, encontró diferencias importantes

Cuadro 3. Relación ventrículo derecho/ventrículo total (VD/VT) y relación ventrículo derecho/peso corporal (VD/PC) en aves Cobb-Vantres (n = 15 aves por grupo) criadas a nivel del mar y en altura (3320 msnm)

Días	VD/VT		VD/PC	
	Nivel del mar	Altura	Nivel del mar	Altura
1	0.117 ^{a1} ± 0.043	0.117 ^{a1} ± 0.043	0.501 ^{a1} ± 0.219	0.501 ^{a1} ± 0.219
10	0.192 ^{a2} ± 0.027	0.263 ^{b2} ± 0.028	1.057 ^{a2} ± 0.173	1.683 ^{b2,3} ± 0.241
20	0.219 ^{a2,3} ± 0.054	0.305 ^{b2} ± 0.072	1.038 ^{a2} ± 0.266	1.460 ^{b2} ± 0.255
30	0.202 ^{a2,3} ± 0.024	0.358 ^{b3} ± 0.048	0.731 ^{a3} ± 0.125	1.728 ^{b3} ± 0.243
40	0.241 ^{a3} ± 0.049	0.361 ^{b3} ± 0.046	0.863 ^{a2,3} ± 0.224	1.621 ^{b2,3} ± 0.244

^{a,b} Letras diferentes dentro de cada variable y edad indican diferencia estadística (p<0.05)

^{1,2,3} Números diferentes dentro de cada variable indican diferencia estadística (p<0.05)

Cuadro 4. Efecto de las variables independientes altitud, edad y concentración de nitritos/nitratos sobre las variables dependientes relación capa media/diámetro de arteriolas pulmonares (CM/DA), relación ventrículo derecho/ventrículo total (VD/VT) y relación ventrículo derecho/peso corporal (VD/P), evaluadas mediante la prueba de regresión lineal

Variable dependiente	Variable independiente	Significancia	Significancia del modelo de regresión	Coefficiente correlación múltiple	Coefficiente determinación múltiple
VD/VT	Altitud	0.000			
	Edad	0.000	0.000	0.814	0.662
	Nitrito- nitrato	0.000			
VD/PC	Altitud	0.000			
	Edad	0.238	0.000	0.763	0.582
	Nitrito- nitrato	0.000			
CM/DA	Altitud	0.632			
	Edad	0.000	0.000	0.746	0.557
	Nitrito- nitrato	0.753			

entre aves criadas a nivel del mar y en altura, señalando que los animales disminuyen su tasa de crecimiento por exposición a la hipoxia como un mecanismo compensatorio.

La hipoxia produce un aumento marcado del hematocrito llegando a presentarse cuadros de policitemia. En el presente estudio se observó un significativo incremento de los niveles de hematocrito ($p < 0.05$) al día 20 de edad (41.5%), manteniéndose elevado hasta el final de la crianza. El nivel elevado de hematocrito podría estar influyendo el aumento de la viscosidad sanguínea, incrementando la presión arterial pulmonar por resistencia y estimulando la remodelación de los vasos sanguíneos; lo cual, a su vez, favorecería la presentación de hipertrofia cardíaca, y en casos avanzados, cuadros de ascitis. Cueva *et al.* (2004), trabajando con aves Cobb-Vantres observaron niveles de hematocrito de 42.1% y presión arterial pulmonar de 45.5 mmHg en la altura frente a niveles de 29.1% de hematocrito y 20.17 mmHg de presión arterial pulmonar. Resultados similares fueron encontrados por Bernilla (2001) y Peña (2001) en pollos de carne de la línea Arbor Acres.

El incremento marcado del hematocrito se debe al incremento de la liberación de eritropoyetina, la cual empieza a partir de las 4 horas de iniciado el cuadro de hipoxia, siendo más evidente en cuadros crónicos. Por otro lado, al inicio de los cuadros de hipoxia, el ON es uno de los factores que estimula la liberación de eritropoyetina por parte del riñón con el objetivo de compensar la deficiencia en la distribución de oxígeno a los tejidos (Yoshioka y Fisher, 1995). Se sabe que la hipoxia induce un incremento de la liberación de prostaglandinas (PG_{E_2} , PG_{D_2} y la $PG_{F_{2\alpha}}$) por parte de las células musculares lisas de las arterias, siendo la $PG_{F_{2\alpha}}$ un potente vasoconstrictor (Bradbury *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2002).

El aumento de la presión arterial pulmonar por efecto de la altura (Ayón *et al.*, 1979, Cueva *et al.*, 2004), es causado inicial-

mente por la vasoconstricción de las arteriolas pulmonares distales, debido a la baja presión de oxígeno y al frío característico de las zonas de altura (Ayón y Cueva, 1998; Sylvester, 2001). La vasoconstricción arteriolar pulmonar hipóxica es un proceso rápido, donde ocurre la liberación de sustancias vasoactivas como prostaglandinas, tromboxanos, bajo nivel de oxígeno y el estado redox. En casos donde la exposición a la hipoxia ambiental es de mayor duración, sustancias vasoactivas como la endotelina-1 (ET-1), cuya síntesis es relativamente lenta y no se encuentra preformada, cumplen un rol de mayor importancia (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, participa en los procesos mitogénicos que intervienen en la muscularización vascular y refuerzan la hipertensión pulmonar (Yang *et al.*, 2002).

En este trabajo, los valores de nitritos y nitratos, considerados como metabolitos finales del ON, mantuvieron un patrón similar a nivel del mar entre los 10 a 40 días de edad, mientras que en la altura se encontró una disminución a los 20 días de edad ($p < 0.05$), lo cual estaría indicando una supresión en la producción de ON, y esto podría estar relacionado al inicio de las modificaciones del tejido muscular a nivel arteriolar pulmonar y ventricular. Asimismo, los niveles se incrementaron significativamente al día 30 ($p < 0.05$), posiblemente relacionado a un incremento en la producción de ON mediante otras vías, como iNOS; sin embargo, este ON no tendría un efecto dilatador sobre la musculatura lisa (Li *et al.*, 1999). Los resultados concuerdan con Fagan *et al.* (1998), quienes reportan que por efecto de la hipoxia crónica hay una supresión en la expresión de eNOS, aunque hay otros reportes que señalan una sobreexpresión de iNOS en estas condiciones (Jung *et al.*, 2000). Por otro lado, Vidalón (2007) encontró una supresión marcada en la producción de ON hacia los 20 y 30 días de edad, diferente a lo encontrado en este trabajo en el día 30 de edad.

La relación CM/DA en altura (0.107 a 0.147) fue mayor a la relación reportada en aves Arbor Acres sometidas a hipoxia (0.097 a 0.119) por Moreno de Sandino y Hernández (2006). El incremento en la muscularización se vio reflejado en la relación CM/DA (Cuadro 2), y puede explicarse como la respuesta del organismo para compensar la mayor demanda metabólica del ave sometida a crianza intensiva. Cortés *et al.* (2006) demostraron que la selección genética del pollo de engorde ha incrementado su velocidad de crecimiento y depósito de masa muscular, trayendo como consecuencia un aumento en la carga metabólica debido a la mayor demanda de oxígeno, haciéndolos más susceptibles a presentar hipertensión arterial pulmonar, debido a una mayor vasoconstricción y desarrollo muscular liso arteriolar pulmonar.

La hipertensión arterial pulmonar e hipertrofia de la capa muscular lisa de las arteriolas pulmonares está relacionada a la hipertrofia cardiaca derecha. La relación VD/VT fue similar a valores señalados por otros autores (Sillau *et al.*, 1980; Peña, 2001). Staub (1963) demostró una relación directa entre la muscularización de la arteriola pulmonar y el aumento del tamaño del ventrículo derecho en la presentación de la hipertensión arterial pulmonar; además Gonzáles *et al.* (1998), comparando siete líneas de pollos, encontraron que el ventrículo derecho de la línea Cobb-Vantress tenía un peso superior al de la línea Ross, pese a que esta última tiene un peso corporal superior.

El tiempo de exposición a la hipoxia (edad del animal) así como las variaciones en los niveles de nitritos y nitratos estuvieron correlacionados con las relaciones CM/DA, VD/VT y VD/PC, tanto a nivel del mar como en altura, sugiriendo que la disminución en la producción de ON o su producción por estimulación de iNOS y la no activación de eNOS serían factores importantes en los cuadros de hipertrofia arteriolar pulmonar e hipertrofia cardiaca.

CONCLUSIONES

- La hipoxia ambiental en altura (3320 msnm) produce una disminución significativa ($p < 0.05$) en los niveles de nitritos y nitratos al día 20 de edad y un aumento marcado ($p < 0.05$) hacia el día 30 de edad en pollos Cob-Vantres.
- Existe una asociación directa entre los niveles de nitritos y nitratos y el tiempo de exposición a la altura con el desarrollo de hipertrofia cardiaca y muscularización de las arteriolas pulmonares en aves de producción de carne.
- Las aves criadas a nivel del mar presentaron una similar muscularización de las arteriolas pulmonares que en aves criadas en altura sometidas a hipoxia ambiental.

LITERATURA CITADA

1. **AFIP [Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América]. 1995.** Métodos histotecnológicos. Washington DC: AFIP. 279 p.
2. **Al-Homidan A, Robertson JF, Petchey AM. 2003.** Review of the effect of ammonia and dust concentrations on broiler performance. *World Poultry Sci J* 59: 340-349.
3. **Ali MH, Schlidt SH, Chandel NS, Hymes KL, Schumacker PT, Gewert BL. 1999.** Endothelial permeability and IL-6 production during hypoxia: role of ROS in signal transduction. *Am J Physiol-Lung C* 277(5): L1057-L1065.
4. **Archer S, Michelakis E. 2002.** The mechanism(s) of hypoxic pulmonary vasoconstriction: Potassium channels, redox O₂ sensors, and controversies. *News Physiol Sci* 17: 131-137.
5. **Ayón M, Valenzuela A, Sillau AH. 1979.** Insuficiencia cardiaca congestiva en aves criadas en altura (mal de altura) y su relación con la hipertensión arterial

- pulmonar por hipoxia. En: Anales VI Cong Latinoam Avicultura. Lima. p 130-136.
6. **Ayón M, Cueva S. 1998.** Adaptación del ganado bovino a la altura. Pub Téc N.º 38. Fac Med Vet, Univ Nac Mayor San Marcos. Lima. 15 p.
 7. **Benjamin MM. 1991.** Manual de patología clínica en veterinaria. México: Limusa. 421 p.
 8. **Bernilla, SV. 2001.** Efecto de la sustancia P sobre la presión arterial pulmonar en pollos expuestos a la altura. Tesis de Magister en Salud Animal. Lima: Facultad de Medicina Veterinaria, Univ Nacional Mayor de San Marcos. 65 p.
 9. **Bradbury DA, Newton R, Zhu YM, Stocks J, Corbett L, Holland ED, Pang LH, Knox AJ. 2002.** Effect of bradykinin, TGF-1 β , IL-1 β and hypoxia on COX-2 expression in pulmonary artery smooth muscle cells. *Am J Physiol-Lung C* 283: L717-L725.
 10. **Celermajer D. 1997.** Endothelial dysfunction: Does it matter? Is it reversible?. *J Am Coll Cardiol* 30: 325-333.
 11. **Cobb. 2008.** Suplemento informativo de rendimiento y nutrición del pollo de engorde Cobb700. [Internet]. Disponible en: www.Cobb-vantres.com
 12. **Cortés A, Estrada A, Ávila E. 2006.** Productividad y mortalidad por síndrome ascítico en pollos de engorda alimentados con dietas granuladas y en harina. *Téc Pec Méx* 44: 241-246.
 13. **Cueva S, Vásquez M, Ayón M, Lira B. 2004.** Rol del óxido nítrico en la presión arterial pulmonar en pollos expuestos a hipoxia de la altura. En: XXVII Reunión Científica Anual. Piura, Perú APPA.
 14. **Druyan S, Hadad Y, Cahaner A. 2008.** Growth rate of ascites-resistant versus ascites-susceptible broilers in commercial and experimental lines. *Poultry Sci* 87: 904-911.
 15. **Fagan K, Huang P, McMurtry I, Rodman D. 1998.** Endothelial nitric oxide synthase (eNOS) deficient mice have increased sensitivity to hypoxia. *Am J Respir Crit Care* 157: A588.
 16. **Forte P, Copland M, Smith L, Milne E, Sutherland J, Benjamin N. 1997.** Basal nitric oxide synthesis in essential hypertension. *Lancet* 349: 837-842.
 17. **Francia M. 2006.** Registro de mortalidad, eliminados y descartes a la saca de dos líneas genéticas de pollos de carne. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Facultad de Medicina Veterinaria, Univ Nacional Mayor de San Marcos. 67 p.
 18. **Ge RL, Witkowski S, Zhang Y, Alfrey C, Sivieri M, Karlsen T, Resaland GK, et al. 2002.** Determinants of erythropoietin release in response to short-term hypobaric hypoxia. *J Appl Physiol* 92: 2361-2367.
 19. **González E, Buyse J, Sayuri T, Sartori J, Decuypere E. 1998.** Metabolic disturbances in male broilers of different strains. Performance, mortality, and right ventricular hypertrophy. *Poultry Sci* 77: 1646-1653.
 20. **Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. 1982.** Analysis of nitrate, nitrite and (¹⁵N) nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 126: 131-138.
 21. **Hassoun PM, Filippov G, Fogel M, Donaldson C, Kayyali US, Shimoda A, Bloch KD. 2004.** Hypoxia decreases of soluble guanylate cyclase in cultured rat pulmonary artery smooth muscle cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 30: 908-913.
 22. **Hernández V. 1986.** La ascitis hipóxica en pollos: Influencia y posibles soluciones. En: Memorias VI Seminario Internacional de Patología Aviar. Georgia, EEUU.
 23. **Jung F, Palmer LA, Nan Zhou, Johns RA. 2000.** Hypoxic regulation of inducible nitric oxide synthase via hypoxia inducible factor-1 in cardiac myocytes. *Circ Res* 86: 319-325.
 24. **Julian RJ, Díaz G. 1999.** La fisiología del pollo de engorde del futuro. *Mundo Avícola Porcino* 32: 12-13.
 25. **Karakurum M, Shreeniwas R, Chen J, Pinsky D, Yan SD, Anderson M, Sunouchi K, et al. 1994.** Hypoxic induction of interleukin-8 gene

- expression in human endothelial cells. *J Clin Invest* 93: 1564-1570.
26. **Li D, Zhou N, Johns RA. 1999.** Soluble guanylate cyclase gene expression and localization in rat lung after exposure to hypoxia. *Am J Physiol-Lung C* 277: L841-L847.
 27. **Maxwell HR, Robertson CW. 2000.** Cardiovascular disease in poultry: epidemiology-current trends and correlates. In: International Poultry Congress. Montreal, Canada.
 28. **Maxwell HR, Robertson CW. 2001.** Encuesta mundial de ascítis: parte 2. *Ind Avícola* 48(10): 16-27.
 29. **MINAG [Ministerio de Agricultura]. 2005.** Producción pecuaria: Aves. [Internet]. Disponible en: www.portal-agrario.gob.pe/pec_real.shtml
 30. **Miranda KM, Espey MG, Wink DA. 2001.** A rapid simple spectrophometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide* 5: 62-71.
 31. **Montalvo C, Ayón M, Sillau H. 1979.** Histología de las arteriolas pulmonares en aves a nivel del mar y en la altura (3300 m). En: *Res VI Cong. Latinoam. Avicultura*. Lima.
 32. **Moreno de Sandino M, Hernández A. 2006.** Pulmonary arteriole remodeling in hypoxic broilers expressing different amounts of endothelial nitric oxide synthase. *Poultry Sci* 85: 899-901.
 33. **Pearlstein DP, Ali MH, Mungai PT, Hynes KL, Gewertz BL, Schumacker PT. 2002.** Role of mitochondrial oxidant generation in endothelial cell response to hypoxia. *Arterioscl Thromb Vas* 22: 566-573.
 34. **Peña TL. 2001.** Efecto de la L-arginina sobre la relación ventrículo derecho/ventrículo total y el hematocrito en pollos de carne en la altura. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Facultad de Medicina Veterinaria, Univ Nacional Mayor de San Marcos. 37 p.
 35. **Roberts JD, Roberts CT, Jones RC, Zapol WM, Bloch KD. 1995.** Continuous nitric oxide inhalation reduces pulmonary arterial structural changes, right ventricular hypertrophy, and growth retardation in the hypoxic newborn rat. *Cir Res* 76: 215-222.
 36. **Roush WB, Wideman RF. 2000.** Evaluation of growth velocity and acceleration in relation to pulmonary hypertension syndrome. *Poultry Sci* 79: 180-191.
 37. **Schechter AN, Gladwin MT. 2003.** Hemoglobin and the paracrine and endocrine functions of nitric oxide. *N Engl J Med* 348: 1483-1485.
 38. **Schilling J, Kolzer P, Guggenbach M, Gyurech D, Maralhia K, Geroulanos S. 1994.** Reduced endogenous nitric oxide in the exhaled air of smokers and hypertensives. *Eur Respir J* 7: 467-471.
 39. **Sillau A, Cueva S, Morales P. 1980.** Pulmonary arterial in male and female chickens at 3300 m. *Pflügers Arch* 386: 269-275.
 40. **Staub N. 1963.** Site of action of hypoxia on the pulmonary vasculature. *Fed Proc* 22: 453.
 41. **Sylvester JT. 2001.** Hypoxic pulmonary vasoconstriction. A radical view. *Circ Res*; 88: 1228-1230.
 42. **Veyssier-Belot C, Cacoub P. 1999.** Role of endothelial and smooth muscle cells in the physiopathology and treatment management of pulmonary hypertension. *Cardiovasc Res* 44: 274-282.
 43. **Vidalón DR. 2007.** El nitrito como posible donador de óxido nítrico para prevenir la presentación de casos de ascítis en pollos de broiler en la altura. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Facultad de Medicina Veterinaria, Univ Nacional Mayor de San Marcos. 39 p.
 44. **Vogel J, Kiessling I, Heinicke K, Stallmach T, Ossent P, Vogel O, Aulmann M, et al. 2003.** Transgenic mice overexpressing erythropoietin adapt to excessive erythrocytosis by regulating blood viscosity. *Blood* 102: 2278-2284.
 45. **Warnholtz A, Wendt M, Münzel T. 2002.** When sleeping beauty turns ugly: mitochondria in hypoxia. *Arterioscl Thromb Vasc* 22: 525-527.

46. **Weissmann N, Grimminger F, Olschewski A, Seeger W. 2001.** Hypoxic pulmonary vasoconstriction: a multifactorial response? *Am J Physiol-Lung C* 281: L314-L317
47. **Wideman RF. 2000.** Pathophysiology of heart/lung disorders. In: International Poultry Congress. Montreal, Canada.
48. **Will DH, Alexander AF, Reeves JT, Grover RF. 1962.** High altitude induced pulmonary hypertension in normal cattle. *Cir Res* 10: 172-177.
49. **Yang X, Sheares KKK, Davie N, Upton PD, Taylor GW, Horsley J, Wharton J, Morrell NW. 2002.** Hypoxic induction of COX-2 regulates proliferation of human pulmonary artery smooth muscle cells. *Am J Respir Cell Mol* 27: 688-696.
50. **Yoshioka K, Fisher J. 1995.** Nitric oxide enhancement of erythropoietin production in the isolated perfused rat kidney. *Am J Physiol* 38: C917-C922.