



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA PREVENTIVA Y SALUD PÚBLICA
MADRID, ESPAÑA

**Hipoxia Hipobárica Intermitente Crónica en Gran Altura:
Construcción de la Historia Natural de una Nueva Situación
Epidemiológica y Biológica.**

Tesis Doctoral

Doctorado en Medicina Preventiva y Salud Pública

Doctorando: Julio Brito Richards

Director de Tesis: Prof. Dr. Rafael Herruzo Cabrera

Madrid- 2007

A mi esposa

A mis maestros

Este trabajo ha sido financiado por el Centro de Investigaciones del Hombre en el Desierto y la Universidad Arturo Prat, de Iquique, Chile. Julio Brito Richards, ha disfrutado de una Beca Doctoral del Proyecto Regional, de la Comisión Nacional de Investigación, Ciencia y Tecnología de Chile, a través, del Centro de Investigación del Hombre en el Desierto.

AGRADECIMIENTOS

1. Al Director de la Tesis, Prof. Dr. Rafael Herruzo Cabrera, por sus enseñanzas, por su cálida y generosa acogida, por su guía durante todo el proceso del doctorado, y por sus siempre oportunas, clarificadoras e inestimables contribuciones.
2. Al Director del Departamento, Prof. Dr. Fernando Rodríguez Artalejo, por su cálida acogida y sus valiosas enseñanzas.
3. Al Prof. Sr. Juan José De la Cruz, por su inagotable apoyo y contribución a esta Tesis, con un trabajo estadístico de excelencia y por su generosidad y elevado espíritu docente.
4. A la Prof. Dra. Fabiola León-Velarde, por su generosidad, apoyo humano y guía científico incondicional, de siempre.
5. Al Prof. Dr. José Ramón Banegas, por su generosidad, apoyo y aportaciones.
6. A todos los profesores del Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, de la Universidad Autónoma de Madrid, que han contribuido con sus enseñanzas, para poder alcanzar un mejor desarrollo personal tanto en lo humano como en lo científico.
7. A la secretaria del Doctorado, Sra. Milagros Santos Santos y a la secretaria del Departamento, Sra. María Ángeles Moratilla Hernandez, por su apoyo y consejos.
8. A nuestros compañeros del doctorado, que no solo han hecho muy grata esta experiencia lejos de nuestra patria, sino que nos han permitido forjar nuevas amistades.

9. A la Universidad Arturo Prat, alma mater, que nos ha brindado la oportunidad de participar en este doctorado.

10. A la Comisión Nacional de Ciencia y Tecnología, de Chile, que a través de su proyecto regional “Centro de Investigaciones del Hombre en el Desierto”, ha brindado el soporte económico que permitiera la realización de este Doctorado

11. A nuestras familias, que han aportado su comprensión, paciencia, apoyo en las circunstancias difíciles y el calor del hogar durante esta etapa.

12. A todos aquellos, que este folio no alcanza a cubrir, pero que han sido parte importante y veces fundamental de nuestras vidas en Chile y España, durante estos agradables y enriquecedores años.

13. A mi esposa, Patricia, con quien hemos compartido esta aventura, y que ha brindado generosa e ininterrumpidamente su amor y apoyo, siendo además una compañera de trabajo incansable y fecunda, y que sin ella, esta Tesis no habría sido posible.

Índice General

Índice

Contenido	Nº Página
1. Introducción General	01
2. Planteamiento y Objetivos	10
2.1. Planteamiento del problema	11
2.2. Objetivos	12
3. Trabajo Intermitente a gran altura: Una nueva situación epidemiológica	14
3.1. Introducción	15
3.2. Materiales y Métodos	17
3.3. Resultados	19
3.4. Discusión	25
4. Diferentes regimenes de exposición a hipoxia intermitente crónica en el largo plazo, ejercen diferentes resultados y efectos morfológicos en ratas Wistar a 4600m.	34
4.1. Introducción	35
4.2. Materiales y Métodos	37
4.3. Resultados	40
4.4. Discusión	49

5. Exposición a Hipoxia Intermitente Crónica en Gran Altura durante más de 12 años: Evaluación de los Efectos Hematológicos y Cardiovasculares.	58
5.1. Introducción	59
5.2. Materiales y Métodos	60
5.3. Resultados	65
5.4. Discusión	71
6. Discusión General de la Tesis	80
7. Conclusiones	102
7.1. Conclusiones respecto al Objetivo 1	103
7.2. Conclusiones respecto al Objetivo 2	104
7.3. Conclusiones respecto al Objetivo 3	105
8. Bibliografía	107
9. Resumen	119
9.1. Resumen del Objetivo 1	120
9.2. Resumen del Objetivo 2	122
9.3. Resumen del Objetivo 3	124
10. Índice de Índice de Tablas y Figuras	126
11. Apéndice: Publicaciones realizadas a partir de los resultados	131

1. Introducción General

1. Introducción General

1.1. Exposición a altura

Una de las primeras descripciones de las molestias encontradas en el hombre por la altura en el continente americano, corresponden a las del insigne jesuita español, Padre José de Acosta, que acompañaba a los soldados españoles durante la conquista de América. José de Acosta describió el Mal Agudo de las Montañas, en su libro Historia Natural y Moral de las Indias (1590), relatando que a esas alturas el “aire era delicado y sutil” y no se ajustaba al requerimiento del hombre que lo necesitaba “mas grueso y mas atemperado”.

Este problema biomédico, que afecta a una importante cantidad de personas en el mundo ha recibido innumerables comunicaciones e investigaciones que han permitido avanzar en forma importante en el conocimiento de este problema y ha tenido un renovado interés dado que existen nuevas situaciones o condiciones emergentes tales como, una mayor actividad turística, movimientos de poblaciones por cambio de la fuente laboral al incrementarse la explotación de minerales en altura y, por otra parte, el encontrar ciertas patologías tan frecuentes como la apnea obstructiva del sueño, que comparten un factor común que es la hipoxia. En consecuencia, pese al gran tratamiento que universalmente ha recibido este tema, aun quedan considerables áreas con respuestas inconclusas o sin investigar.

La condición biológica de exposición a la altura, es definida como una condición del medio ambiente que se caracteriza fundamentalmente por una disminución de la presión de oxígeno ambiental debido a la disminución de la presión barométrica o atmosférica, que disminuye de manera exponencial en función de la altura, de modo que a nivel del mar, la presión barométrica es de 760 milímetros de mercurio (mm Hg), mientras que a 4600 m es de 412 mm Hg.

La atmósfera terrestre esta compuesta en gran medida de oxígeno (O_2), nitrógeno, gas carbónico y agua, encontrándose el O_2 en una proporción de 21% cualquiera sea la altura. Sin embargo, dado que la presión de O_2 se calcula multiplicando la presión barométrica por la fracción de oxígeno en el aire (0.21), la disminución de la presión de O_2 en la altura es proporcional a la caída de la presión atmosférica, de igual manera disminuyen su presión los otros componentes del aire. Por tanto, la disminución de la presión parcial de los gases implicará varios efectos en la homeostasis de los individuos, como la generación de una hipoxia como efecto principal y la distensión de los gases como efecto secundario (ley de Boyle). Así, es importante señalar que la hipoxia es el fenómeno capital de la exposición a la altitud.

La hipoxia, es en último término, una disminución del abastecimiento de oxígeno a nivel celular, que altera el metabolismo y la producción de energía en los organismos aeróbicos. Se conocen diferentes clases de hipoxia dependiendo su clasificación de la causa:

- Hipoxia hipóxica (disminución de la cantidad o de la presión del O₂, como en el caso de la hipobaría por menor presión atmosférica)
- Hipoxia por estancamiento (por disminución del flujo)
- Hipoxia hipémica (disminución del transportador)
- Hipoxia histotóxica (interferencia por drogas)

La hipoxia hipobárica, por menor presión atmosférica, se genera por la disminución de la presión parcial de O₂ inspirado en el ambiente, ya que por no existir la fuerza necesaria para una adecuada presión alveolar (ley de Henry y de la difusión de los gases) se produce como consecuencia una disminución de la cantidad de oxígeno que es transportado por la sangre a todas las células del organismo. Así, a nivel del mar la hemoglobina se satura de oxígeno en un 95 a 99% y en alturas como a los 3800 m la saturación disminuye a 90% (Monge y León- Velarde, 2003). Por tanto los efectos y las repercusiones en el organismo, dependerán fundamentalmente del nivel de altura a que se exponen.

Cuando el organismo humano es sometido a una exposición a la altura, o condición de hipoxia debido a la disminución de la presión de O₂, se ponen en marcha mecanismos fisiológicos dirigidos a regular la caída de la presión arterial de oxígeno. Estos mecanismos reguladores tienen como objetivo evitar la perturbación del equilibrio del medio interno, conocido como proceso de aclimatización, y la eficiencia de estos sistemas reguladores presenta variaciones entre los individuos (Grover , 1990).

La aclimatación es un proceso fisiológico que en su fase inicial, se caracteriza por una importante respuesta simpática y de los quimiorreceptores del cuerpo carotídeo, produciendo fundamentalmente un aumento de la frecuencia respiratoria, un incremento de la frecuencia cardiaca y una elevación de la tensión arterial, con el propósito de asegurar el transporte de oxígeno hacia las células; junto a manifestaciones a nivel celular y sistemas, que en su fase tardía es caracterizada por un incremento de glóbulos rojos en la sangre. Estos cambios tienen variaciones entre los individuos y en algunos de ellos, pueden producirse también alteraciones patológicas, encontrándose descrito como una mala adaptación en el periodo agudo la enfermedad aguda de montaña (EAM) que puede ir desde su forma mas leve (cefalea mas algún otro síntoma: nauseas, vómitos, mareos y dificultad para dormir) hasta su forma mas severa que es edema agudo de pulmón y edema cerebral y potencialmente la muerte (Hackett, 2003). En aquellos expuestos en forma crónica ya sea residentes habituales o nativos se describen como patologías características de esta condición tres procesos: el mal crónico de montaña o enfermedad de Monge (policitemia), la hipertensión pulmonar de altura (Monge y León- Velarde, 2003; León- Velarde et al., 2005) y patologías trombóticas (Anand et al., 2001).

1.2. Clasificación de exposición a la altura.

La exposición a la altura del ser humano puede clasificarse de distintas maneras, pero principalmente se efectúa de acuerdo a la cantidad de tiempo

que permanece en dicha condición, y es así como se distinguen principalmente en tres modalidades:

Exposición aguda: Se denomina a la condición en que la que los sujetos se exponen por un periodo corto de tiempo (horas o días) a la altura geográfica, siendo esta situación, la más frecuente en turistas y alpinistas.

Exposición crónica: Se refiere a periodos prolongados de tiempo, por ejemplo años y generalmente compromete a personas que han nacido en altura (nativos) o que viven permanentemente ya sea por razones de trabajo u otras (residentes habituales).

Exposición crónica intermitente: Se refiere a las personas que no viven permanentemente en la altura, sino que se desplazan a esta por periodos, a su trabajo (horas o días) y luego descienden a nivel de mar para su descanso (horas o días) manteniéndose en esta condición por tiempo prolongado (Richalet et al., 2002).

1.3. Exposición a hipoxia hipobárica crónica intermitente

El desarrollo de la minería en Chile se ha sustentado en el último tiempo con la explotación de minerales que se extraen en faenas realizadas generalmente sobre los 4000 metros de altura. Para el desarrollo de este tipo de faenas se ha optado por el reclutamiento de personal especializado que habita a nivel del mar y que debe trabajar por periodos cortos (días) en gran

altura en regímenes de turnos, como modalidad de vida. Estos trabajos que comprometen una elevada cantidad de trabajadores, generan un impacto económico y social importante.

Esta nueva situación laboral (exposición de seres humanos en forma intermitente a faenas de gran altura por largos periodos), ha sido denominada **“Modelo Chileno de exposición intermitente crónica a la altura”** (Richalet et al., 2002), representando un modelo de trabajo y una situación de salud relativamente nueva y no suficientemente explorada en el conocimiento científico, en comparación a la exposición crónica y aguda.

Esta condición laboral, implica un sistema de turnos con una cantidad fija de días de trabajo en altura seguido por un cierto número de días de descanso a nivel de mar, durante varios años y con una frecuencia que varía desde 4 hasta 40 días, abarcando un variado número de actividades, tales como minería, astronomía y trabajo de fronteras. En Chile, la mayoría de la población se encuentra vinculada al trabajo de minería, especialmente en la extracción del cobre, con un promedio de turnos de 7 días en altitud y 7 días a nivel de mar. Asimismo esta condición difiere de otras formas de exposición, tales como la exposición aguda (alpinistas) y crónica (habitantes de altura) y también de otras exposiciones intermitentes a hipoxia tales como la apnea del sueño (Richalet et al., 2002).

Por ser una situación relativamente reciente, se encuentran pocas publicaciones que nos señalen los efectos de este tipo de exposición,

especialmente a largo plazo. Uno de los principales estudios en esta condición ha sido realizado en una cohorte de mineros, con un periodo de seguimiento de 2 años y medio, en turnos de 7 días en altura y 7 días a nivel de mar (Richalet et al., 2002), que mostró diversas respuestas: un aumento de la presión arterial inicial seguida de una posterior disminución, pero que se mantiene levemente mas elevada que la presión a nivel del mar mientras permanecen altura, una disminución de la frecuencia cardiaca, comparada con la taquicardia de los periodos iniciales, una elevación del hematocrito, pero que no alcanza valores tan elevados como los descritos para residentes habituales, una persistencia de la EAM y una leve dilatación del ventrículo derecho. Otro estudio, en este tipo de exposición corresponde a uno de corte transversal, focalizado específicamente en el área hematológica y cardiovascular, el cual también describe una elevación del hematocrito pero sin alcanzar niveles patológicos (Heinicke et al., 2003). Igualmente, recientemente se ha descrito un aumento de la presión pulmonar en valores patológicos en cada exposición y que ésta, aunque reversible a nivel de mar, toma un cierto tiempo en recuperarse (Sarybaev et al., 2003). Si esto persiste en el tiempo o se produce una hipertensión pulmonar constituida se desconoce.

1.4. Exposición a hipoxia hipobárica crónica

La exposición a la altura en forma crónica (hipoxia hipobárica crónica), es una situación que ha sido bastante estudiada en sus repercusiones fisiológicas y patológicas, fundamentalmente en nativos de altura o residentes habituales. Se ha considerado necesario hacer una breve descripción de la

exposición a hipoxia crónica, en consideración a que en esta condición ocurre la máxima exposición posible y sus efectos adquieren cierta relevancia en la comparación de algunos resultados y conclusiones y permiten la adecuada comparación para contestar una de las preguntas de la hipótesis.

Se conoce que la exposición a la altura (hipoxia hipobárica) en forma crónica genera como efectos deseados de la adaptación cambios en el hematocrito (elevación) y aumento de la capacidad ventilatoria. Sin embargo, en algunos individuos este proceso de adaptación se convierte en un fenómeno patológico, como el mal crónico de montaña o enfermedad de Monge (policitemia), la hipertensión pulmonar de altura (Monge y León- Velarde, 2003; León- Velarde et al., 2005) y patologías trombóticas (Anand et al., 2001). Asimismo, se ha apreciado que los nativos presentarían una baja prevalencia de hipertensión (Woods et al., 2003; Monge y León-Velarde, 2003) y algunas alteraciones de los componentes lipídicos. La prevalencia de eritremias patológicas e hipertensión pulmonar de gran altura se ha comunicado en prevalencias que fluctúan entre un 5% y un 10% en los residentes permanentes de cotas altas (León-Velarde et al., 2005).

Por todo lo expuesto anteriormente, hemos partido de un problema de salud laboral en Chile (exposición a la altura en forma crónica intermitente), del cual se cuenta con poca información a mediano y a largo plazo, desconociéndose la historia natural de los efectos producidos por éste tipo de exposición, para efectuar planteamientos y objetivos de la presente Tesis Doctoral.

2. Planteamiento y Objetivos

2. Planteamiento y objetivos

2.1. Planteamiento

El planteamiento de la siguiente Tesis Doctoral se centra en una serie de hechos.

1. El desarrollo de la minería en Chile ha generado un nuevo modelo de ***exposición intermitente crónica a la altura***, que no ha sido suficientemente explorada en comparación a la exposición crónica y aguda. Tampoco a la fecha se ha contado con una visión epidemiológica del problema sanitario y de las eventuales cargas de salud o enfermedad.

2. Como la obtención de información en humanos es un proceso largo y determinados estudios no son posibles, se ha hecho necesario contar con un modelo animal que permita, mediante el análisis de otros parámetros, la comparación de los efectos de esta exposición y si los diferentes regímenes o turnos que actualmente existen en uso presentan respuestas similares o diferentes. Se pretende que esta información pueda ser aplicada a un ambiente clínico o laboral y además contribuir a la construcción de la historia natural de la hipoxia intermitente crónica.

3. Por otra parte, al tratarse de una situación epidemiológica reciente, no se cuenta con información a largo plazo sobre algunas repercusiones esperadas en aspectos tales como aclimatación y afectación de la circulación pulmonar,

por lo que surge la necesidad de estudiar otros grupos que han estado expuestos a una situación similar por mas de 10 años, de forma que sus resultados puedan contribuir al conocimiento de esta exposición.

En consecuencia, los hechos anteriormente señalados, conducen a establecer las consideraciones que justifican el trabajo de investigación de la presente Tesis Doctoral y a determinar sus objetivos

2.2. Objetivos

Esta Tesis Doctoral tiene los siguientes objetivos:

- 1.** Obtener una visión epidemiológica de la incidencia de consultas, riesgo de enfermar y carga de salud esperable en la condición de trabajo de hipoxia intermitente en forma crónica, a través del seguimiento de una población de trabajadores en una explotación minera (4600 m) durante 2 años, a través de las consultas espontáneas en los centros sanitarios de trabajo y se comparan con un grupo de trabajadores de similares características a nivel del mar, con el propósito de utilizar esta información en aspectos de salud pública, salud laboral y decisiones de costos e inversión
- 2.** Establecer un protocolo experimental para evaluar y comparar, a través de los efectos morfológicos, como los diferentes regímenes de exposición a CIH influirían en diferentes órganos en ratas Wistar expuestas a hipoxia crónica intermitente (4600 m) en dos sistemas de turnos, comparado con

un grupo en hipoxia crónica y otro grupo control a nivel del mar (NM) durante 12 meses.

3. Evaluar el estado biológico y de salud de sujetos del Ejército de Chile que llevan trabajando mas de 12 años (promedio 25 años) en un sistema de turnos de 4 días en altura y 3 días de reposo a nivel del mar, a 3550 m , a través de variables cardiovasculares, hematológicas, bioquímicas y sintomatología de altura, para ir construyendo una historia natural de este sistema de exposición y tipo de turno.

Cada uno de los objetivos se abordará en un apartado del siguiente modo:

- a) El objetivo número 1 se desarrollará en el apartado 3, titulado: **“Trabajo Intermitente a gran altura: Una nueva situación epidemiológica”**.
- b) El objetivo número 2 se desarrollará en el apartado 4, titulado: **“Diferentes regimenes de exposición a hipoxia intermitente crónica en el largo plazo ejercen diferentes resultados y efectos morfológicos en ratas Wistar a 4600m”**.
- c) El objetivo número 3 se desarrollará en el apartado 5, titulado: **“Exposición a Hipoxia Intermitente Crónica en Gran Altura durante más de 12 años: Evaluación de los Efectos Hematológicos y Cardiovasculares”**.

3. Trabajo Intermitente a gran altura: Una nueva situación epidemiológica.

3. Trabajo Intermitente a Gran Altura: Una Nueva Situación Epidemiológica.

3.1. Introducción

La gran mayoría de los estudios de los efectos de altura en las personas abordan áreas muy focalizadas y orientadas hacia aspectos fisiológicos, bioquímicos, moleculares y genéticos, que se centran más bien en las respuestas y el comportamiento biológico en la condición de altura. Las patologías de altura presentan una gran variedad y un amplio espectro desde la morbilidad tradicional (enfermedad aguda de montaña, edema agudo pulmonar de altura, enfermedad crónica de montaña o mal de Monge, etc.) hasta aspectos menos mencionados frecuentemente como lesiones oculares y trombóticas (Basnyat et al, 2000). Sin embargo, estudios epidemiológicos que determinen diferencias entre las cargas de salud, incidencia de morbilidad general o específica de poblaciones de altura comparadas con nivel del mar, son escasos en esta nueva condición de exposición intermitente crónica y, en sus aspectos laborales según creemos, inexistentes. La gran mayoría de los estudios de corte epidemiológico han abordado patologías u otros aspectos más específicos, tales como distribución de enfermedades en viajeros a la altura.

En población expuesta en forma crónica, uno de los estudios epidemiológicos mas importante, por el volumen de población y amplio espectro de variables estudiadas, fue realizado en Cerro de Pasco, Perú,

caracterizando un perfil de salud tanto en mineros como no mineros. Dicho perfil señala: una mala percepción de estado de salud, presencia de enfermedad crónica de montaña (ECM), policitemia en niveles patológicos que aumenta con la edad, repercusiones en la función pulmonar (volúmenes bajos) y saturaciones bajas, gran morbilidad y mortalidad por afecciones respiratorias y una elevada mortalidad por accidentes cerebrovasculares (León-Velarde y Arregui, 1994). En la condición de intermitencia y trabajo minero, el estudio mas importante es una cohorte seguida por 2 1/2 años, que analiza en forma integral los aspectos cardiovasculares, hormonales, sintomatología de altura y calidad de sueño (Richalet et al, 2002), determinado una base fisiológica de las respuestas en esta condición. Los aspectos epidemiológicos de esta condición han sido descritos en un estudio por Siqués y Brito (2001), que fue la fuente de los datos para este trabajo.

Como una manera de obtener una visión epidemiológica de la incidencia de consultas, riesgo de enfermar y carga de salud esperable en dicha situación, se efectuó el seguimiento de una población de trabajadores en una faena minera (4600 m) durante 2 años al inicio del proceso productivo, a través del análisis de las consultas espontáneas en los centros sanitarios de la explotación minera, y se compara con un grupo de similares características a nivel del mar. Esta información podría tener utilidad para aspectos de salud pública, salud laboral y decisiones de costos e inversión.

3.2. Materiales y métodos

3.2.1. Grupos de estudio y diseño

Se utilizó como fuente los registros médicos de las consultas espontáneas en el policlínico en altura (4600 m) y un policlínico a nivel del mar como grupo control (91.500 consultas totales). Se efectuó una depuración para excluir consultas por exámenes de salud y aquellas repetidas dentro del periodo biológico del episodio mórbido, quedando para el análisis final un total de 54.613 consultas de morbilidad (50.557 en altura y 4.056 a nivel del mar), durante la totalidad de los 2 años. Las consultas provenían de una población promedio anual de 7.018 personas en la zona minera y de 1.200 personas para el grupo control. Las enfermedades se codificaron de acuerdo a la Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades N° 10 (CIE 10).

a) Grupo Expuesto a Hipoxia Hipobárica Crónicamente Intermitente :

Se consideraron a todos los trabajadores, independiente de su área específica de trabajo y carga laboral, pertenecientes a la compañía minera o contratistas que se encontraban trabajado en sistemas de turnos expuestos a hipoxia hipobárica intermitente en forma crónica a 4600 m, y cuya actividad laboral se desarrollara en altura y el descanso a nivel del mar. Los diferentes tipos de turnos comprendían desde el 4x4, 7x7, 10x10 hasta el 15x15. Todos los trabajadores habían sido sometidos a un examen de salud para poder ingresar al trabajo en altura por compañías independientes y la composición del

grupo era mayoritariamente masculina (97%) con un rango de edad (20 a 50 años).

b) Grupo Control:

Sujetos pertenecientes a otra institución del estado, que residían y trabajaban a nivel de mar, en turnos, con características similares de sexo (96% masculinos) y etarias (rango 18 a 50 años). Además, tenían condiciones de atención de salud comparables a la población expuesta tales como: examen médico de selección al ingreso de la institución, controles médicos periódicos, atención gratuita y libre acceso.

3.2.2. Análisis estadístico

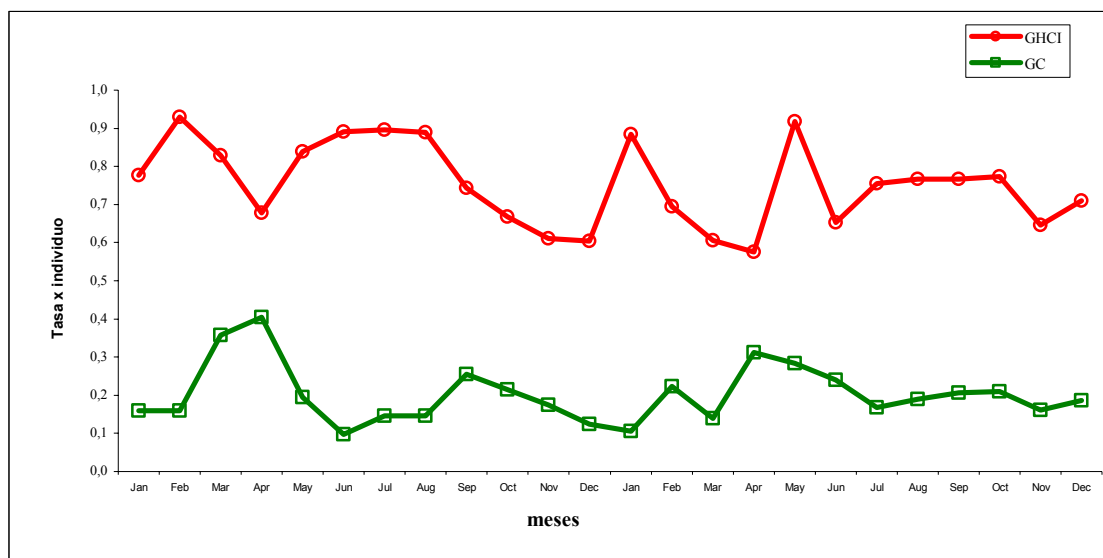
Para el análisis de los datos se utilizó el programa SPSS, Versión 12.0 y se obtuvieron distribuciones: por consulta total, morbilidad, según grandes grupos y por morbilidad específica. Se confeccionaron promedios de incidencia de consultas, logradas por el cociente del número de consultas en el periodo versus el total de personas factibles de consultar en ese periodo. Se realizaron comparaciones entre los dos grupos mediante Anova de un factor y análisis bi y multivariante mediante regresión logística. El nivel de significación fue establecido en $p < 0.05$.

3.3. Resultados

3.3.1. Morbilidad general:

En general, se aprecia un mayor porcentaje de consultas por morbilidad en el grupo expuesto a Hipoxia Hipobárica Crónicamente Intermitente por individuo, durante todo el periodo estudiado, con un promedio de 6 consultas año por individuo en el grupo expuesto y de 1.8 en el grupo control, lo que produce un OR 3,3. Se observa también una variación estacional con mayor incidencia durante los meses de invierno. Fig. 1.

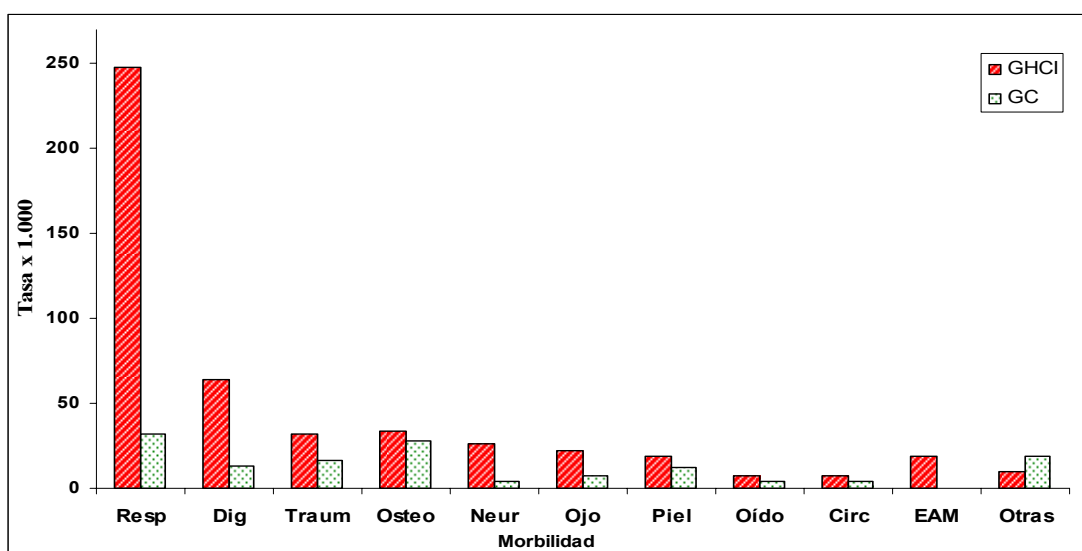
Fig 1.- Tasa de incidencia mensual de consulta de morbilidad general por individuo.



Se observó que todos los grandes grupos de morbilidad tienen una mayor incidencia de consultas por individuo ($p < 0.05$) en el grupo expuesto a intermitencia crónica (la primera causa de consulta son las enfermedades respiratorias) que en el grupo control. Además, en el grupo intermitente esta

morbilidad reportada corresponde a más de la mitad de las consultas (51.4%) con una tasa de incidencia de 248.1 x 1.000 x año. En segundo lugar aparecen las enfermedades digestivas y en tercer lugar los traumatismos (64.2 y 32.3 x1.000 respectivamente). Fig. 2

Fig 2.- Comparación de promedios de tasas de incidencia x 1.000 individuos, según grandes grupos de morbilidad



Para efectos de esta publicación se han seleccionado para los análisis algunos grupos de morbilidad, bien por la carga que representan, o por su asociación con la exposición en altura o por su interés.

3.3.2. Enfermedades respiratorias

Las enfermedades respiratorias presentan un exceso de consultas de 7.7 veces más en grupo de intermitencia crónica y una estacionalidad con mayores valores en el invierno, Fig. 3. Aunque no se observan diferencias de la

distribución dentro de los subgrupos de causas específicas, existe una mayor promedio en el grupo de intermitencia crónica de todos los subgrupos de morbilidad y la morbilidad respiratoria aguda (faringitis, gripe y tonsilitis) es la más relevante, en el grupo de altura. Tabla 1.

Fig 3.- Comparación de tasas de incidencia de consultas mensual x 1.000 individuos, según enfermedades del sistema respiratorio

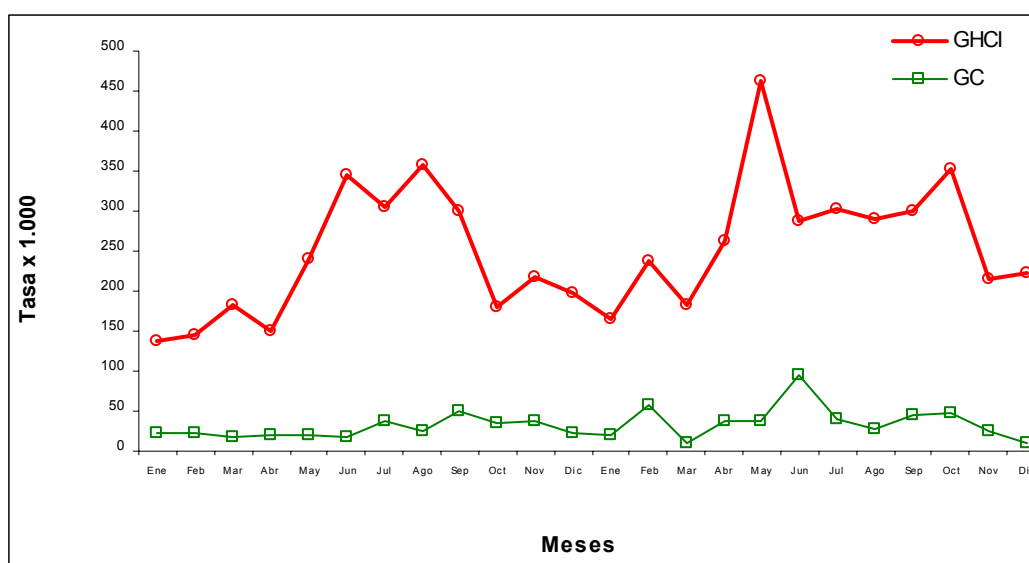


Tabla 1.- Comparación de promedios de tasas de incidencia de consultas x 1.000 individuos en enfermedades respiratorias según sub grupos de morbilidad. Odds Ratio (OR) y *p*-valor. Entre expuestos a hipoxia intermitente crónica (GHCI) y grupo control (GC)

Sub-Grupos	GHCI	GC	OR	P valor
Enfermedades agudas tracto respiratorio superior	151	20	7.5	<0.001
Gripe	45	5	8.6	<0.001
Enfermedades agudas tracto respiratorio inferior	39	6	6.5	<0.001
Otras	12	2	2	<0.001

3.3.3. Enfermedades del ojo, piel y oído

Respecto a las enfermedades del ojo y sus anexos, el grupo en altura presenta un exceso de riesgo de 2.9 veces mas respecto al control, Tabla 2. Las causas o morbilidad específicas dentro de este subgrupo muestran un perfil epidemiológico diferente entre ambos grupos estudiados, encontrándose en el grupo de hipoxia hipobárica intermitente crónica que las predominantes son conjuntivitis y queratitis actínicas (87% y 5% respectivamente) y en el grupo control los vicios de refracción (54%).

Tabla 2: Comparación de promedios de tasas de incidencia de consultas x 1000 individuos, para enfermedades del ojo, piel y oído, Grupo expuesto a hipoxia intermitente (GHCI), Grupo control (GC), Odds ratio (OR) y *p*-valor

Grupos de Morbilidad	GHCI	GC	OR	<i>p</i> valor
Enfermedades del ojo	22.0	7.6	2.9	< 0.001
Enfermedades de la piel	18.9	12.3	1.5	< 0.01
Enfermedades del oído	7.2	4.3	1.7	< 0.01

Las enfermedades de la piel y anexos, presentan un riesgo de consulta menor que para las enfermedades respiratorias en relación al GC (solo 1.5 veces mas), Tabla 2, pero destaca en cuanto a su distribución específica, la dermatitis no infecciosa como la causa principal, con una distribución mayor en el grupo de hipoxia crónica intermitente (72,8% v/s 38,3%).

Respecto a las enfermedades del oído y sus anexos, se observa un exceso de riesgo de 1.7, Tabla 2 y nuevamente la distribución nos muestra un perfil epidemiológico diferente de acuerdo al grupo estudiado, ocupando en el grupo intermitente, el primer lugar la otitis (69%) y el segundo lugar la epistaxis (20%) que no tiene casi representación en el grupo control.

3.3.4. Hipertensión arterial, cefalea y enfermedad aguda de montaña (EAM):

En el análisis de ciertas enfermedades o síntomas de patologías específicas seleccionadas, se puede observar que: aunque, las enfermedades circulatorias ocupan el 9º lugar de motivo de consulta, el 85% de estas en el grupo de hipoxia intermitente, está dado por la hipertensión arterial (HTA) mientras en el grupo control es solo del 46% ($p < 0.001$), lo cual representa un riesgo de consultar en el grupo de altura de 3.1 veces más por este motivo.

Tabla 3

Tabla 3.- Comparación de promedios de tasas de incidencia de consultas x 1.000 individuos, de hipertensión arterial (HTA), cefalea y enfermedad aguda de montaña (EAM), Grupo expuesto a hipoxia crónica intermitente (GHCI), grupo control (GC), Odds ratio (OR) and p -valor; * no hay datos.

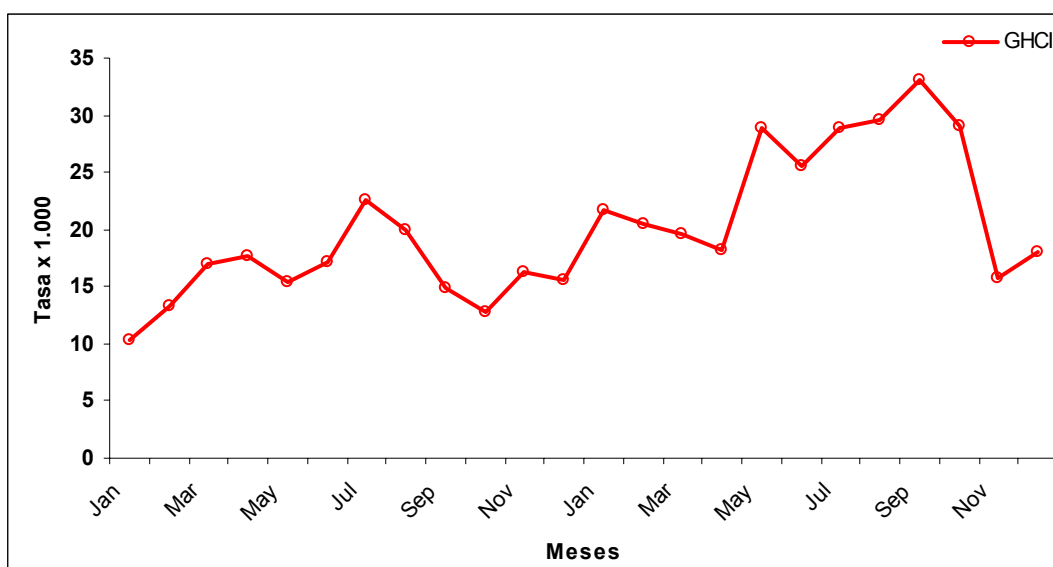
Morbilidad	GHCI	GC	OR	P valor
HTA	5.9	1.9	3.1	< 0.001
Cefalea	23.7	2.5	9.5	< 0.001
EAM	19.3	*	*	*

Respecto a la cefalea, este síntoma presenta una proporción importante como causa específica de consulta en el grupo en altura (7° lugar por causa específica) y se estudia por ser el síntoma cardinal de la enfermedad aguda de montaña. La tasa de incidencia encontrada, es bastante elevada, muestra un riesgo de 9.5 veces mayor ($p < 0.001$), permaneciendo constante en el tiempo.

Tabla 3

La enfermedad aguda de montaña (EAM), patología patognomónica de efecto de la altura, se presenta con una tasa de incidencia de 19.3×1.000 . Al analizar este síndrome con variables, como el pulso, presión arterial sistólica y diastólica, se encuentra solo una correlación débil con la SaO_2 de la Hb (promedio SaO_2 : 86.4 v/s 89.2) OR 1.3, $p < 0.01$. La curva mensual de incidencia muestra cierta temporalidad siendo mayor en los meses de invierno. Fig. 4

Fig 4.- Tasa de incidencia mensual x 1000 individuos, de consultas por enfermedad aguda de montaña (EAM)



3.4. Discusión

Este estudio representa un aporte al conocimiento y es una primera investigación epidemiológica, sobre morbilidad y carga de salud en trabajadores mineros expuestos a exposición intermitente crónica a gran altura. Se muestra que esta condición tiene una repercusión sanitaria importante, caracterizada por una mayor carga de enfermedad en general y un predominio de las enfermedades respiratorias, especialmente las agudas del tracto respiratorio superior. Asimismo, se describen otras entidades que pudieran también estar asociadas a factores ambientales y la persistencia en el tiempo de síntomas de EAM.

Nuestros resultados globales muestran claramente que en esta condición laboral se presenta un mayor exceso de consultas, tanto en números absolutos como por morbilidad y un mayor riesgo de enfermar; representado una mayor carga para los sistemas sanitarios. La mayor incidencia global y específica por grupos de morbilidad encontrada no ha sido posible de comparar en la condición de intermitencia, dada la dificultad de encontrar estudios epidemiológicos similares en trabajos mineros. Aunque era presumible esperar una serie de condiciones mórbidas, como ha sido descrito extensamente en la literatura respecto a otros tipos de exposición (aguda y crónica), no se conocía si esta nueva condición pudiera presentar similitud o diferencia con estas.

En diferentes estudios, se señalan condiciones mórbidas, atribuidas a la hipoxia en altura, sea aguda o crónica: enfermedad aguda de montaña,

enfermedad crónica de montaña, edema agudo pulmonar de altura, etc. (Brundett, 2002; Monge y León-Velarde, 2003) y algunas otras relacionadas con ésta y/o aspectos ambientales: lesiones actínicas, lesiones neurológicas, etc. (Bansyat et al, 2000). Igualmente, algunos estudios epidemiológicos focalizados señalan hipertensión arterial, enfermedades gastrointestinales, respiratorias, trauma, metabólicas, entre otras (Marticorena et al 1969, Calbet, 2003, Temte, 1996; Caceres et al, 2004; Hochedez et al, 2004, Sadnicka et al, 2004), aunque dichos estudios no abordan en forma específica la frecuencia o la carga de salud general. No obstante, en condición de intermitencia crónica, se encuentran algunos estudios de poblaciones similares aunque enfocados hacia diferentes respuestas biológicas de estos sujetos (Richalet et al, 2002; Heinecke et al, 2003; Sarybaev et al, 2003), Estos muestran persistencia de EAM, hipertensión pulmonar, alteración de la calidad de sueño y policitemia moderada, entre otros. En la condición crónica, el mayor estudio epidemiológico comprensivo o global, es el realizado en Cerro de Pasco (León-Velarde y Arregui, 1994), en población de mineros y otros trabajadores, donde se señala que la exposición traería como consecuencia mayores problemas de salud, enfermedades específicas asociadas a la altura (cefalea) y otras comorbilidades (enfermedades respiratorias) .

El presente estudio, complementa al estudio de León-Velarde y Arregui, al mostrar resultados en otro tipo de condición de exposición a la altura, observándose algunas similitudes que serán detalladas en los capítulos correspondientes, coincidiendo con la presencia de una mayor morbilidad general. Los resultados han mostrado que todos los grupos de morbilidad

presentan una mayor incidencia con la exposición, y que la mayor carga de morbilidad esta dada por las enfermedades respiratorias, con una magnitud aproximada del 50% y una elevada tasa de incidencia, constituyendo un problema de salud indiscutible y prioritario. Por otra parte, queda establecido que la condición de trabajo en altura es el factor más importante en la explicación de este fenómeno, a la vez que las otras variables como son las biodemográficas, turno, situación de salud y sistemas sanitarios han sido ajustadas con el grupo control.

3.4.1. Respiratorias

Respecto a las enfermedades respiratorias, la literatura señala que en general, son la causa principal de consultas en todas poblaciones. Así, en condición de exposición crónica y aguda se destaca como un problema importante de salud relacionado con ésta y/o los factores ambientales que la rodean (Murdoch, 1995; Basnyat et al, 2000; Hochedez et al, 2004), aunque no se explicita la carga de salud que representan. No obstante, referido solo a mortalidad, el estudio epidemiológico de Cerro de Pasco destaca a las enfermedades respiratorias con un mayor riesgo de letalidad. (León-Velarde y Arregui, 1994).

Nuestros resultados, muestran que las enfermedades agudas del tracto respiratorio superior (faringitis, amigdalitis y bronquitis) son las mayoritariamente responsables de la demanda sanitaria en altura (mayor proporción y exceso de consulta), mientras que las patologías crónicas no

aparecen representadas. Las patologías agudas, que muestran similitud como causa de morbilidad con los estudios anteriormente mencionados y con algunos estudios de absentismo laboral en trabajos mineros en Chile (Cantuarias y Cornejo, 1993), pero lamentablemente no ha sido posible hacer comparaciones en magnitud o exceso de consulta. Esta mayor incidencia, observada por la estacionalidad podría atribuirse a factores ambientales, en razón al volumen del problema observado en la altura y orienta probablemente a la suma combinada de ambas condiciones, a la vez que se encuentra descrito un compromiso ventilatorio y alteración de la inmunidad en altura (León-Velarde y Richalet, 2006; Thake et al, 2004).

3.4.2. Ojo, piel y oído

Las enfermedades del ojo y sus anexos son descritas en numerosos estudios en exposición crónica y aguda a la altura como un problema asociado a este tipo de hipoxia y/o a los factores ambientales presentes en altura (radiación ultravioleta, baja humedad relativa, etc.). Destacando como mas relevantes la conjuntivitis no especificada, queratitis actínica y hemorragia retiniana. (Klocke et al, 1998; Karakucuk y Mirza, 2000; Basnyat et al 2000). Nuestros resultados muestran un exceso de riesgo de 2.9 veces mas en los expuestos y la causa mas frecuente obedece a conjuntivitis del tipo actínica probablemente, aunque no se puede descartar que dichas conjuntivitis presenten una mezcla con síntomas y signos derivados de cambios hipóxicos de la estructuras externas del ojo (Basnyat et al, 2000), constituyendo un tema de importancia en la salud laboral y susceptible de medidas preventivas.

Las enfermedades de la piel y sus anexos, si bien presentan un promedio de incidencia más bajo y un exceso de consulta también menor, la mayor proporción de dermatitis no especificada encontrada en el grupo intermitente, también nos orientan hacia una influencia de la exposición no claramente atribuible a la hipoxia, sino también al fenómeno de mayor radiación ultravioleta o condiciones laborales, lo cual es coincidente con resultados descritos en exposición crónica (Deng et al, 2006) y asociado al trabajo minero en Chile (Cantuarias y Cornejo, 1993). Al igual que para las enfermedades del ojo, este fenómeno puede suscitar intervenciones del punto de vista de seguridad laboral y epidemiológico.

Las enfermedades del oído y sus anexos, igualmente muestran un exceso de riesgo para el grupo de hipoxia crónica intermitente con un OR de 1.7. Además, se diferencian del grupo control en la distribución específica dentro del subgrupo, donde la otitis representa la primera causa de consulta ($p < 0.01$) y la epistaxis es un fenómeno casi exclusivo del grupo expuesto y no descrito anteriormente para este tipo de exposición. Se establece una clara asociación con la exposición, pero no es posible responder en este estudio si está en relación a la hipoxia o a los factores ambientales de la altura o a ambas. La revisión de la literatura, también señala a la morbilidad del oído como un problema presente y relacionado con la exposición a la altura (Mukhopadhyay et al, 2000). Así, en exposiciones agudas se produciría una irritabilidad de los órganos vestibulares y un retraso en la conducción sensorial reversible. También, en ascensos y descensos bruscos, los “disbarismos” (otalgia, odontalgia, sinusalgia, por atrapamiento de aire o descompresión

brusca), no encontrados en este estudio por una probable dificultad de discriminación clínica en el centro sanitario, están claramente documentados (Mirza y Richardson, 2005)

Respeto a la frecuencia de otitis encontrada en este estudio, la más extensa literatura lo asocia a actividades de vuelo y niños (Mirza y Richardson, 2005) y en cuanto a trabajos en altura, aparece como una causa menor de ausentismo laboral (Cantuarias y Cornejo, 1993). Creemos que requiere un mayor estudio si este fenómeno pueda tener relación con el modelo de intermitencia (numerosos ascensos y descensos), y ser parte de los “disbarismos” como se mencionara anteriormente. Tampoco, puede descartarse, al igual que para las patologías de piel y ojo, que los factores ambientales jueguen un papel preponderante y también que la hipoxia esté contribuyendo o incluso sean ambos factores en forma sinérgica.

3.4.3. Hipertensión arterial (HTA), cefalea y enfermedad aguda de montaña (EAM)

Dada las características del grupo estudiado y el tiempo de exposición, se considero importante destacar algunos síntomas o patologías marcadoras de efecto de hipoxia o altura.

Al respecto, llama la atención que en el grupo expuesto el 85% de enfermedades del sistema circulatorio este dado por la hipertensión arterial y ésta representa un exceso de consultas por esta patología de 3.1 veces mas.

La literatura consultada, muestra una gran variedad de resultados frente a la presencia de HTA y altura, señalándose en general, una mayor elevación de la presión arterial en exposición aguda y una menor prevalencia con valores mas bajos en exposición crónica (residentes), aunque en sujetos no originarios de altura se aprecia una tendencia hacia la elevación de ambas presiones, en especial la diastólica con menos del 10% de conversión en hipertensos crónicos. (Marticorena et al, 1969; Mirrakhimov et al, 1985; Khalid et al, 1994; Hanna, 1999). En trabajadores mineros expuestos a la misma condición estudiada, Richalet et al, 2002, encuentra valores mas elevados en altura, con tendencia a disminuir al cabo de 2 años. En consecuencia, los resultados demuestran que en este tipo de exposición existe un mayor exceso y riesgo de consultas por hipertensión arterial, que esta asociado a la exposición ($p < 0.01$), en forma constante durante los años de estudio y que es coincidente con lo observado para exposición del tipo agudo y/o para sujetos no nativos de altura.

Respecto a la cefalea, se ha considerado el análisis por separado, en razón al importante lugar que ocupa como causa especifica de consulta de los expuestos, a la alta prevalencia descrita en la literatura como síntoma cardinal de EAM o como síntoma aislado de efecto de altura (Basnyat et al, 2000; Hackett, 2003) y también al hecho que la clasificación de EAM en el policlínico, fuente de los datos, solo se consideraron las moderadas o severas (≥ 5 Lake Louise Score).

Este síntoma que presenta por si solo el 4.4% de las consultas en el grupo de hipoxia intermitente crónica y el mas elevado OR (9.5) de todas las

morbilidades, demuestra claramente su asociación con la exposición ($p < 0.001$). La prevalencia en otros estudios de este síntoma por si solo o como integrante de EAM en exposición aguda va desde un 20 a 62% (Hackett y Reinnie, 1976; Hackett, 2003), mientras que en mineros expuestos crónicamente en forma intermitente se mantiene constante (Richalet et al, 2002) y en mineros expuestos en forma crónica llega hasta un 54% (León-Velarde y Arregui 1994). La relevancia de este síntoma, que si bien la mayoría de las veces no representa una seria enfermedad, debe considerarse en el contexto laboral por la potencial interferencia con la capacidad de trabajo y productividad con elevados costos sanitarios por bajas de enfermedad (Gerth et al, 2001; Pradalier et al 2004).

Respecto a la enfermedad aguda de montaña, entidad nosológica característica de la exposición a la altura, presenta en este estudio una menor incidencia que lo descrito en la literatura para exposición aguda. Algunas explicaciones probables para ello pueden encontrarse en el sesgo de inclusión descrito, o a un fenómeno de acostumbramiento o a medidas de control no investigadas que podrían disminuir la incidencia de EAM (Gaillard et al, 2004). El hecho que esta morbilidad este presente en forma permanente y sea coincidente con los resultados de la cohorte de mineros intermitentes (Richalet et al, 2002), muestra que este fenómeno mórbido de altura no desaparece con el tiempo. Adicionalmente, se encuentra una correlación débil con la SaO_2 (OR: 1.3) ya que los sujetos con EAM tienen en promedio 3.9% menos de valor de saturación, correlación que es coincidente con lo descrito por Roach et al, 1998.

Este estudio aporta al conocimiento y el establecimiento de una línea basal en una nueva situación epidemiológica producida por la condición de trabajo intermitente crónico en gran altura. Como producto de este estudio, ha sido posible: determinar la magnitud de la demanda de atención de salud, la caracterización tipológica de las consultas, valorar el riesgo de consultar por las diversas patologías y como resultado de ello, la carga por pérdida de salud esperable. Asimismo, aunque las causas de morbilidad no difieren de las encontradas en el grupo control, las diferencias en el perfil epidemiológico y el exceso de consulta encontrado, demuestran una asociación ya sea a la hipoxia, al ambiente o la acción combinada de ambas. Por otra parte, la gran mayoría de las causas de consulta corresponden a patologías de baja complejidad.

Finalmente este trabajo, además de mostrar las características epidemiológicas, entrega información que permitirá orientar tanto a futuras investigaciones como a la correcta provisión de los recursos sanitarios y medidas preventivas requeridas en circunstancias similares, en el presente y a futuro.

4. Diferentes regimenes de exposición a hipoxia intermitente crónica en el largo plazo ejercen diferentes resultados y efectos morfológicos en ratas Wistar a 4600m.

4. Diferentes regimenes de exposición a hipoxia intermitente crónica en el largo plazo ejercen diferentes resultados y efectos morfológicos en ratas Wistar a 4600m.

4.1. Introducción

La hipoxia crónica intermitente (HCI), en periodos mas bien cortos, ha sido estudiada extensamente y fundamentalmente en el aspecto de entrenamiento físico (Neubauer., 2001), pero en el largo plazo no ha merecido la misma atención que la hipoxia crónica, probablemente por la reciente aparición de este modelo de exposición, y solo en los años más recientes ha existido una mayor preocupación. Como consecuencia de ello, existen pocas investigaciones para contestar la pregunta si esta condición (CIH), afecta a los individuos en una forma similar o diferente como lo hace la hipoxia aguda y crónica. Tampoco, ha habido suficiente investigación que compare, si existen diferencias entre los diferentes periodos de exposición a esta condición.

Se conoce ampliamente algunos cambios morfológicos que ocurren en algunos órganos en forma primaria o secundaria por la exposición a la hipoxia y entre ellos se describen: el edema pulmonar de altura (HAPE), el edema cerebral de altura (HACE) y la hemorragia pulmonar (Maggiorini., 2003). En el caso de la exposición crónica, bastante conocidos son la enfermedad crónica de montaña, la policitemia de altura, la hipertensión pulmonar de altura, la hipertrofia ventricular derecha, la hipercoagulabilidad, trombosis y la alteracion renal, comunicadas ampliamente (Anand et al., 2001, Monge y León-Velarde,

2003; León-Velarde et al., 2005), cuyos detalles serán discutidos y analizados a lo largo del texto para cada órgano estudiado. En relación a la exposición intermitente en el largo plazo, especialmente en humanos, se cuenta con una cohorte de mineros de tres años que muestra una moderada elevación del hematocrito, un porcentaje de enfermedad aguda de montaña (AMS) y un crecimiento leve del ventrículo derecho (Richalet et al., 2002). En estudios animales en HCl, la mayoría de la información se refiere a más bien periodos cortos de exposición y generalmente no comparan diferentes regimenes de exposición. Algunos de estos estudios, muestran que las alteraciones aparecen en concordancia con la intensidad de la hipoxia en el lecho vascular pulmonar (Nakinishi et al., 1996), que el hematocrito se eleva en menor medida y en forma mas retardada que en la hipoxia crónica (Siqués et al., 2006) y también ha sido descrita una hipertrofia del ventrículo derecho (Germack et al., 2002)

Ya que no existen conclusiones definitivas de cómo estos órganos se afectan en este tipo de exposición y si existen diferencias entre los diferentes turnos, y dada la relevancia sanitaria para nuestra población, se consideró necesario conocer de forma mas profunda estos efectos, para poder contribuir a diseñar un régimen de turno “mas saludable”. Con este propósito, se diseñó un protocolo experimental para evaluar y comparar, a través de los efectos morfológicos, como los diferentes regimenes de exposición a hipoxia crónica intermitente influían en diferentes órganos en ratas Wistar expuestas a hipoxia crónica intermitente CIH(4600m) en un sistema de turnos, comparado con un grupo en hipoxia crónica y otro control a nivel del mar (NM) durante 12 meses.

4.2. Materiales y métodos

4.2.1. Grupos de estudio y diseño

Un total de 152 ratas adultas (3 meses de edad) de cepa Wistar, que pesaban un promedio de 190.6 ± 6.2 grs., fueron expuestas en forma aleatoria a cuatro regimenes distintos de exposición durante un periodo de 12 meses. Un grupo denominado control normoxico (NX), n=24; un grupo en hipoxia intermitente crónica (HC12X2) que permanecía 2 días en hipoxia hipobárica y 2 días en normoxia, n=50; otro grupo en hipoxia intermitente crónica (HC14X4) que permanecía 4 días en hipoxia hipobárica y 4 días en normoxia, n=50 y un grupo en hipoxia crónica permanentemente (HC),n=28. Para evitar cambios relativos a influencias hormonales y para mantener una similitud con el modelo chileno, donde la población minera es predominantemente masculina, solo se estudiaron ratas machos y adultas.

La menor presión atmosférica se simuló con una cámara hipobárica, a 428 torr equivalente a 4600 m sobre el nivel de mar, manteniendo un flujo interno de 3.14 l/min. de aire en la cámara (0.09 lts de aire minuto por rata), a una temperatura de 22°C y el ciclo día/noche. El grupo control fue colocado en la misma habitación de la cámara hipobárica ($22 \pm 2^\circ\text{C}$; 12 hrs. Noche/día ciclo). En cada jaula se mantuvieron 4 ratas, con agua y comida disponible (10 g/día de pellet por rata) en dispensadores estándar de laboratorio. La cámara fue abierta cada 2 días por aproximadamente 30 min. para limpieza y alimentación. La obtención de los órganos y el examen histológico se efectuó a

medida que las ratas fallecían y los controles se sacrificaron aleatoriamente al mes 3°,9° y 12°.

4.2.2. Variables

Estudio Morfológico:

A cada rata fallecida o sacrificada, se le extrajo: corazón, pulmón, hígado y riñón. A cada órgano analizado, se le valoraron las siguientes variables: congestión, edema, hemorragia, necrosis, trombosis y para riñón además la presencia de cilindros. En corazón, además se midió el grosor de pared de ventrículo izquierdo (GVI) y ventrículo derecho (GVD). Los órganos fueron fijados en solución de Bouin, procesados en parafina, cortados con un micrótopo y luego teñidos con Hematoxilina–eosina y analizados posteriormente por un patólogo clínico bajo microscopio de luz (Olympus CX31RBSFA, Olympus Optical Co.). Las lesiones fueron clasificadas de acuerdo a la clasificación y definición de Robbins Pathology (1999). Para obtener la medición de los grosores de ambos ventrículos, estos fueron disecados bajo lupa y la medida fue obtenida con un corte transversal, 3 mm bajo la válvula auriculoventricular, y luego se utilizó la escala micrométrica de Draftsman en el microscopio Olympus.

El diseño de este protocolo y modelo de experimentación contó con la aprobación del Comité de Ética de la Universidad Arturo Prat para el estudio en animales

4.2.3. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico, se utilizó el programa estadístico SPSS, versión 12.0. (SPSS, Inc., Chicago, Ill). La relación entre variables cualitativas y probabilidad de enfermedad o efecto fue realizada con la prueba de Chi-cuadrado de Pearson y probabilidad exacta de Fisher o corrección de Yates cuando fue necesario e igualmente el p de tendencia. Para estudiar los eventos (hallazgos morfológicos), su relación con el tiempo de aparición y las diferencias entre turnos, se realizó un análisis de supervivencia utilizando la prueba de Kaplan-Meier y su significación estadística fue determinada por la prueba de Log-rank. Para analizar la asociación entre mortalidad y las variables significativas, se efectuó un análisis bi y multivariante usando la regresión de Cox. Los resultados son presentados como crudos (mutuamente ajustados), riesgo relativo (RR) y el intervalo de confianza al 95%. Para el análisis de las variables cuantitativas (Ej.: grosor de las paredes ventriculares) agrupadas en periodos: 0-3 meses, 3-9 meses y 9-12 meses, la normalidad fue establecida usando la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las diferencias entre las condiciones estudiadas fueron determinadas con una ANOVA de un factor, ajustados por peso con MANOVA. Para establecer los coeficientes de variación de hipertrofia de ventrículo derecho se utilizó una regresión lineal multivariante. Todos los parámetros fueron analizados con un nivel de confianza de un 95%, p valor <0.05.

4.3. Resultados

4.3.1. Generalidades

La tabla 4 destaca en primer lugar, que todas las exposiciones presentan una elevada mortalidad, ocurriendo mayoritariamente en el primer trimestre, sin diferencias significativas entre los turnos intermitentes y el turno crónico ($p < 0.05$). El grupo de hipoxia crónica mostró una menor mediana de días de vida comparado con los grupos expuestos en forma intermitente. También es muy llamativo, la poca o ausencia de ganancia de peso, en todos los turnos expuestos, que aunque es significativa con respecto al control ($p < 0.001$), no es significativa entre los turnos. Los principales hallazgos morfológicos que se encontraron relacionados con la muerte en el tiempo fueron: congestión de corazón (RR: 2.1, $p < 0.001$), edema de pulmón (RR: 1.7, $p < 0.001$), hemorragia pulmonar (RR: 3.4, $p < 0.001$), y necrosis de hígado (RR: 2.1, $p < 0.05$).

Tabla 4.- Características generales del protocolo de acuerdo al tipo de régimen; N: ratas en estudio, número y proporciones (%) de ratas fallecidas, peso a la muerte (grs), días de vida; Los valores corresponden a Medias \pm DS (\bar{X}); * corresponde a controles sacrificados.

Variables	NX	HCI2x2	HCI4x4	HC
N	24	50	50	28
Fallecidas	24 *	39 (77%)	42 (84%)	28 (89%)
\bar{X} Peso a la muerte	396,1 \pm 13,4 *	200,7 \pm 5,3	185,4 \pm 4,7	182,6 \pm 8.5
\bar{X} Dias de vida	251,8 \pm 22,0 *	125,8 \pm 21,5	115,2 \pm 17.8	104,2 \pm 20.9

4.3.2. Efectos Morfológicos

Para una mejor comprensión, se analizan por separado los efectos o repercusiones morfológicas en algunos parénquimas blancos, y se aprecian en la tabla 5.

Tabla 5.- Distribución de los Hallazgos morfológicos (eventos) de acuerdo al régimen de exposición durante los 12 meses estudiados para Corazón, Pulmón, Hígado y Riñón. Los valores corresponden a proporciones (%), p-valor y p-tendencia.

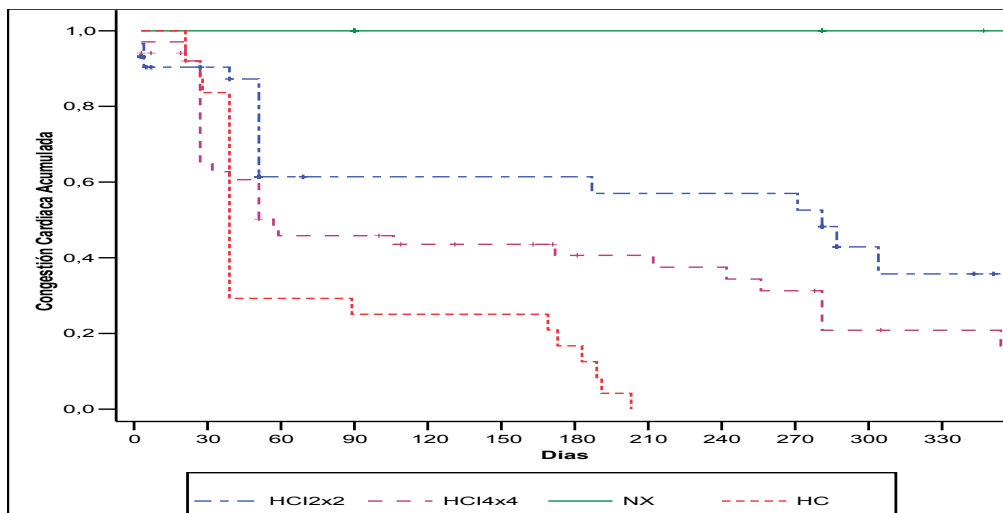
Régimen / Evento por Órgano	NX	HCl2x2	HCl4x4	HC	<i>p valor</i>	<i>ptendencia</i>
Corazón						
Congestión	4,2%	44,7%	71,7%	96,0%	<0.001	< 0.001
Necrosis	0%	0%	22%	4%	<0.001	< 0.05
Trombosis	0%	2,6%	6,5%	4%	NS	NS
Pulmón						
Edema	8,3%	52,6%	23,9%	48,0%	< 0.05	< 0.05
Hemorragia	25,0%	63,2%	84,8%	68,0%	< 0.001	< 0.001
Trombosis	0,0%	26,3%	39,1%	60,0%	< 0.001	< 0.001
Hígado						
Congestión	50,0%	90,9%	84,3%	87,5%	< 0.001	< 0.05
Necrosis	0%	0%	21,6%	12,5%	< 0.001	< 0.001
Hemorragia	0%	22,7%	28,0%	50,0%	< 0.001	< 0.001
Trombosis	0,0%	13,6%	37,3%	54,2%	< 0.001	< 0.001
Riñón						
Congestión	50,0%	75,0%	90,9%	100,0%	NS	< 0.05
Edema	0,0%	75,0%	63,6%	28,6%	< 0.05	NS
Cilindros	0,0%	0,0%	36,4%	71,4%	< 0.05	< 0.001

4.3.3. Corazón

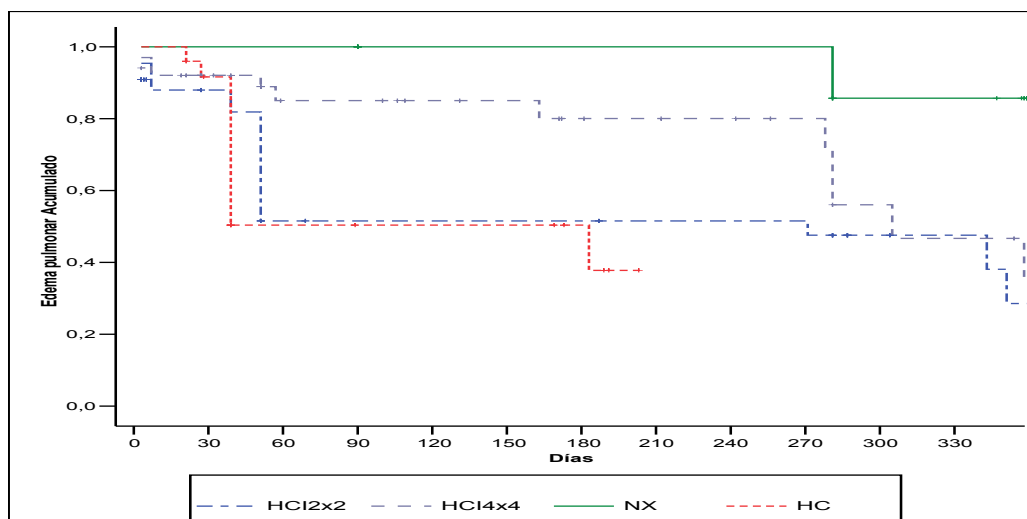
De todos los hallazgos morfológicos, el que más predomina a este nivel es la congestión, que llega alcanzar hasta un 96% en hipoxia crónica. La congestión esta claramente asociada al tipo de exposición ($p < 0.001$) y presenta una tendencia lineal ($p_{trend} < 0.001$), observándose que a mayor tipo de exposición existe una mayor y más severa congestión. La mediana (50% de los eventos) de la aparición de la congestión en el tiempo ocurre precozmente, a los 39 días en el grupo HC y en el grupo HCl4X4 a los 60 días, siendo muy tardía en el grupo HCl2X2 (270 días), Fig. 5^a. Llama la atención la existencia de focos de necrosis miocárdica en un 22% solo en los turnos HCl4X4 y en el HC (4%), mostrando relación con la exposición ($p < 0.001$) y ocurriendo después de los 60 días. Además, ocurrieron escasos casos de trombosis coronaria (solamente en los expuestos), sin alcanzar significación estadística.

Fig. 5: Curva acumulada de hallazgos morfológicos (evento) de acuerdo al régimen de exposición: (A) congestión cardiaca y (B) edema pulmonar, mediante análisis de supervivencia de Kaplan–Meir.

A



B



4.3.4. Compromiso de Pared Cardíaca

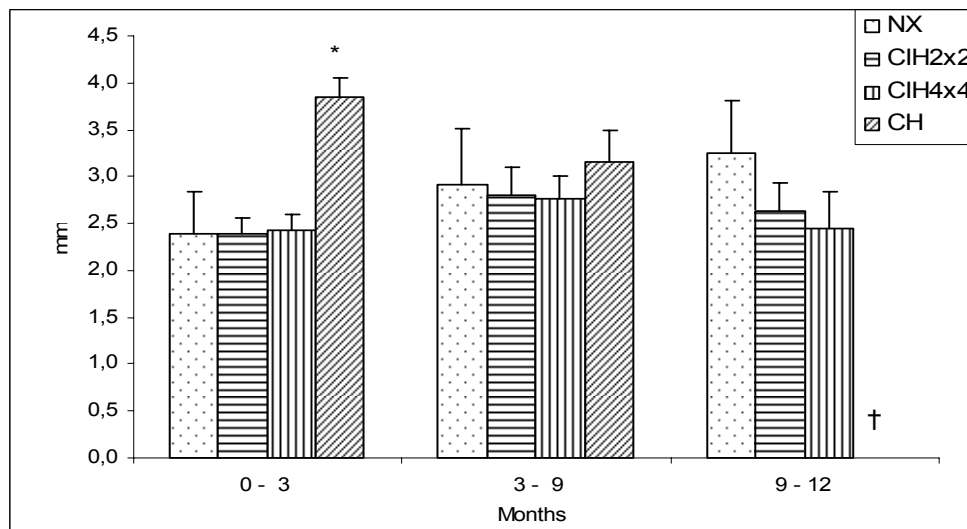
Con el objeto de evaluar el grado de hipertrofia ventricular, se midió en mm el grosor de cada ventrículo, y para despejar la influencia del compromiso del peso observado durante el estudio, como variable de confusión, se

ajustaron las medias mediante MANOVA por el peso a la muerte y se estratificaron por tiempo. Así, la Fig. 6 nos muestra que en el ventrículo izquierdo es posible observar un mayor grosor, estadísticamente significativo, solo en el primer periodo (0 a 90 días) y en el turno crónico ($p < 0.001$), desapareciendo la significación a partir del mes 3.

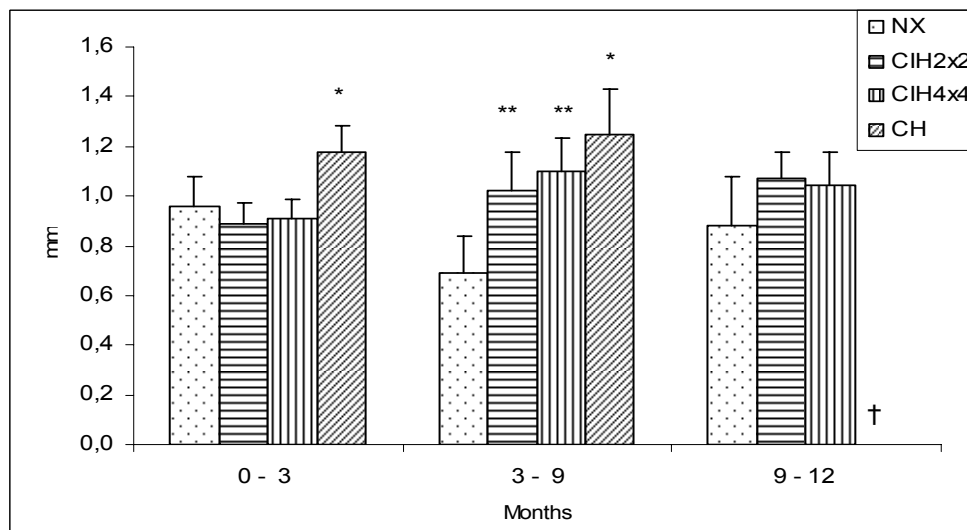
Para el Ventrículo Derecho, se aprecia un aumento de grosor, significativo en el primer periodo (0- 3 meses) solamente el del turno HC ($p < 0.001$). Sin embargo, en el segundo periodo de exposición (3 – 9 meses), todos los turnos intermitentes y el crónico muestran una diferencia de grosor mas elevada, significativa, respecto al control ($p < 0.001$) y además también diferencias significativas ($p < 0.001$) entre los grupos intermitentes y el crónico, con un menor grosor del ventrículo derecho en relación al crónico. Durante el último periodo de observación no se aprecian cambios, y no hubo muertes en el grupo de hipoxia crónica. Asimismo, se logro determinar que el coeficiente de variación de aumento del grosor del ventrículo derecho por cada mes de vida fue de 0.01mm., y por cada cambio de turno a mayor intensidad (0.05mm), $r^2 = 0.24$; $p < 0.001$.

Fig. 6: Medias de grosor ventricular de acuerdo al régimen de exposición y periodo en: **(A)** Ventriculo izquierdo y **(B)** Ventriculo derecho en milímetros (mm). Los valores corresponden a promedios \pm intervalos de confianza. ($p < 0.05$, * p es significativo con NX, ** p es significativo para hipoxia intermitente crónica (CIH) respecto a hipoxia crónica (CH) y † no hay datos)

A



B



4.3.5. Pulmón

En el pulmón, los eventos más destacados que aparecen son el edema, hemorragia y trombosis en todos los grupos expuestos. El edema y hemorragia presenta una frecuencia similar en los grupos HCl2X2 (52,6 % y 63,3) y HC (48% y 68%), diferenciándose el HCl4X4, que presentó menos edema (23%) y mayor hemorragia (84%), presentando los dos primeros una asociación marcada con el tipo de exposición ($p < 0.05$). Si bien el edema es un fenómeno de inicio precoz, la mediana de ocurrencia es más precoz en el HC y HCl2X2 en aquellas ratas que mueren entre los 30-60 días (Fig. 5b) $p < 0.001$.

La trombosis, solo se aprecia en los turnos expuestos ($p < 0.001$), en forma creciente con la exposición (p de tendencia < 0.001) y de ocurrencia tardía.

4.3.6. Hígado

Este parénquima, se ha considerado necesario analizar, en consideración a la escasa información disponible sobre su comportamiento en altura y que al estar sujeto a la repercusión de cambios del circuito derecho propios de la hipoxia, debería manifestar algún tipo de alteración.

En primer lugar destaca que todos los fenómenos, excepto la congestión hepática, ocurren solamente en los grupos expuestos, siendo este el de mayor frecuencia. La congestión es cercana al 90%, en todos los grupos expuestos,

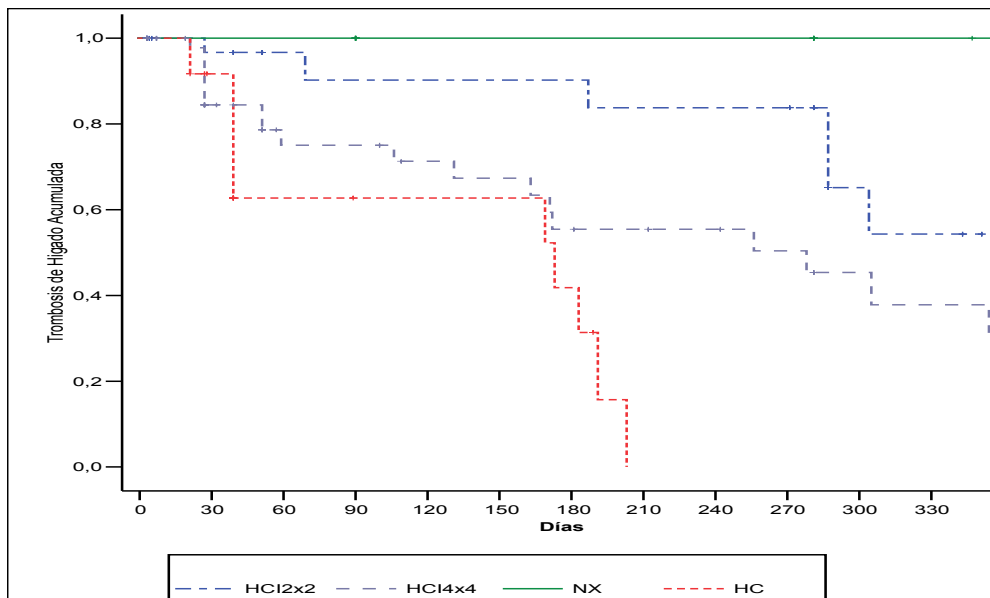
presentado una asociación con la exposición ($p=0.01$) y en forma lineal (p tendencia <0.05), siendo un fenómeno de aparición precoz.

La necrosis ocurre en una proporción relativamente baja solamente en los turnos HC y HCl4X4 (21.6% y 12.5%), mostrando una asociación con la exposición ($p<0.001$) y una fuerte influencia en la mortalidad. La hemorragia es un fenómeno exclusivo de los expuestos, siendo de relativamente baja frecuencia en los turnos intermitentes HCl2X2 y HCl4X4 (22,7% y 28%), mientras el grupo HC presenta una elevada proporción (50%), y se asocia significativamente a la exposición ($p<0.001$) y en forma lineal (p -tendencia <0.001).

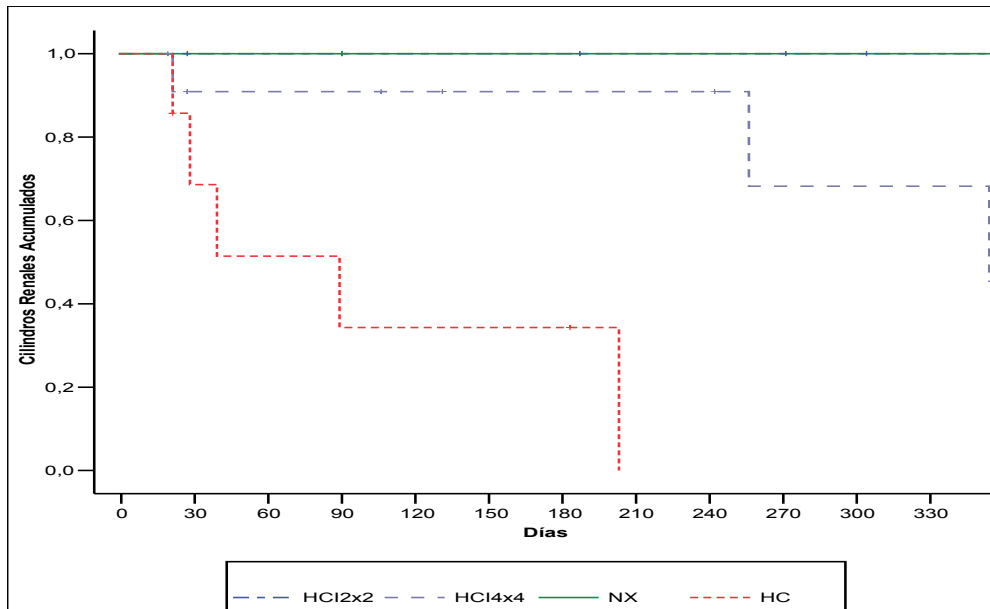
La trombosis, solo se presentó en expuestos; fue menor en el turno intermitente HCl2X2 (13,6%) y mayor en el HC (54,2%), mostrando una asociación significativa con la exposición ($p<0.001$). Ocurrió tardíamente (después de la mitad del periodo de exposición), primero en el grupo HC (mediana 173 días) y el mas tardío el grupo HCl4X4 (mediana 278 días) $p<0.001$, Fig. 7a

Fig 7.- Curva acumulada de hallazgos morfológicos (evento) de acuerdo al régimen de exposición: (A) Trombosis hígado y (B) Cilindros renales, mediante análisis de supervivencia de Kaplan–Meir.

A



B



4.3.7. Riñón

La congestión, aunque fue un hallazgo más frecuente en los expuestos, no alcanzó significación estadística ($p > 0.05$), probablemente por la influencia de un cuadro viral agudo en los NX. Pese a no ser significativa su asociación con la exposición o turno, se destaca que se eleva significativamente en forma lineal en el tiempo de exposición ($p < 0.05$) y alcanza el 100% en el grupo HC. Respecto al edema, solo se presentó en los expuestos, teniendo su mayor frecuencia en los grupos intermitentes y la menor en el grupo HC, sin diferencias entre los turnos, pero si con el control (NX), $p < 0.001$.

Los cilindros renales, como fenómeno singular de daño, solamente se apreciaron en los turnos CIH4X4 (36.4%) y HC (71.4%), con elevada frecuencia en este último. Claramente estaban asociados a la exposición ($p < 0.05$) y mostró una tendencia lineal ($p = 0.01$), siendo precoz en su mediana de eventos en el grupo HC (89 días) y bastante más tardío en el grupo HCI4X4 (354 días).

4.4. Discusión

Este estudio ha pretendido comparar, y a su vez diferenciar, a través de los efectos morfológicos, diferentes modalidades de exposición o “turnos” en condiciones de intermitencia crónica a gran altura. Los resultados muestran diversos hallazgos morfológicos que tiene gran influencia en la muerte, la mayoría de ellos parecen estar relacionados con los cambios esperados en una situación de exposición aguda o efectos directos de la hipoxia (Maggiorini,

2003) y la mas bien elevada mortalidad encontrada en la altitud podría estar explicada por la altura, la intensidad de la exposición o también una mayor susceptibilidad de la especie a la hipoxia como ha sido descrita en otras especies (Colice et al.,1995) y que prolongados periodos, como el caso de este trabajo, implican un desafío importante en la adaptación (Sulkowska,1997)

4.4.1. Corazón

Uno de los órganos que presenta gran importancia en altura y sus consecuentes modificaciones, es el corazón, por la ineludible relación que existe entre el circuito derecho y la hipoxia. Dicha relación establece como mecanismo de respuesta aguda y crónica una mayor sobrecarga del circuito derecho por la constricción de los vasos pulmonares y su posterior remodelación (Peñaloza y Arias-Stella, 2007). En humanos residentes en altura, se encuentra claramente descrita esta entidad nosológica como Hipertensión Pulmonar Crónica de Altura (León-Velarde et al., 2005) y en el caso de exposición aguda como hipertensión pulmonar aguda. En hipoxia crónica intermitente a largo plazo, se ha descrito el aumento leve del diámetro del VD (Richalet et al., 2002). En ratas, una extensa literatura describe el fenómeno de hipertensión pulmonar e hipertrofia de ventrículo derecho como respuesta a la hipoxia de diferentes tipos (Nakanishi et al., 1996; McGuire y Bradford, 1999), pero en menor grado en CIH (Corno et al., 2004). Asimismo, se ha establecido una respuesta del ventrículo izquierdo hacia la hipertrofia en humanos crónicos expuestos (Monge y León-Velarde, 2003), al igual que en ratas (Ostadal et al., 1981).

En este estudio, se muestran los mismos efectos morfológicos descritos en la literatura a nivel microscópico (congestión, necrosis) descritos para periodos no muy prolongados de exposición (Ostadal et al., 1981; Joyeux-Faure et al., 2004). Sin embargo, la congestión parece implicar un diferente grado de compromiso por órgano de acuerdo al régimen y duración de la exposición, ya que los regímenes intermitentes ocupan una posición más intermedia comparada a la hipoxia crónica, y el grupo intermitente HC12X2 muestra un compromiso menor y más retardado en su aparición.

En cuanto al grosor de la pared ventricular derecha, que se escogió como parámetro de hipertrofia como resultado de una hipertensión de arteria pulmonar, nuestros resultados confirman que la exposición a la hipoxia produce una hipertrofia del ventrículo derecho, pero esta respuesta, en los intermitentes, ocurre en forma retardada y es menor, estableciendo de algún modo una diferencia, ya que se introducen el tiempo y el tipo de exposición, como variables importantes en el resultado final, al igual que otras variables previamente descritas como la edad y el nivel de altitud (Peñaloza y Arias-Stella, 2007). Además, la ecuación de regresión lineal multivariante que hemos calculado, establece que por cada cambio de turno (de menor a mayor exposición) y por cada mes de vida en exposición, el grosor del ventrículo derecho aumenta en 0.06mm.

Aunque menos estudiado, también se ha descrito en ratas sometidas a una exposición intermitente una hipertrofia de ventrículo izquierdo (Ostadal et al., 1981) o a una exposición crónica (Genovese et al., 1983). Este fenómeno

solamente se encontró en el grupo de hipoxia crónica y podría orientar hacia un mecanismo de sobrecarga, por viscosidad debida a la marcada policitemia que se presentaba en el grupo como ha sido publicado (Siqués et al., 2006) y también se ha descrito en residentes habituales en altura (Monge y León-Velarde., 2003).

Por otra parte, se ha descrito un beneficio potencial de hipoxia intermitente en la mejoría del trabajo cardiaco (Asemu et al., 2000, Neubauer, 2001), pero a la luz de nuestros hallazgos y otros similares (Ostadal et al., 1981; Joyeux-Faure et al., 2004), no podemos apoyar totalmente dichos aseveraciones, ya que estos efectos benéficos han sido encontrados en exposiciones mucho mas breves y a menor altitud que el presente estudio, lo que hace que en cierta medida nuestros resultados no sean totalmente comparables.

4.4.2. Pulmón

Es conocido que este es uno de los órganos más afectado, junto al corazón, por la hipoxia, tanto en ratas como humanos (Vyas-Somani et al.,1996; Sulkoswska, 1997; Nakanishi et al., 1997; Monge y León-Velarde, 2003) y es en general el más sensible a los cambios hipóxicos tanto crónicos como agudos, y el edema y hemorragia pueden ser considerados efectos agudos como consecuencia de una descompensación en el circuito pulmonar por la hipoxia, y se trata de fenómenos esperados como consecuencia de cada ingreso al turno.

Nuestros resultados muestran que la presencia de edema y la hemorragia presentan un patrón diferente de acuerdo al tipo de régimen de exposición y además tienen una forma diferente de presentación a la de los otros órganos estudiados. Asimismo, es importante observar que la precocidad y elevada frecuencia del edema en el grupo de régimen corto (HC12X2) en forma similar al grupo HC, podría sugerir un mayor peso del efecto hipóxico en aquellos grupos con menor tiempo de recuperación a nivel del mar y la dificultad de adaptación de estos animales (Sulwoska ,1997).

Por otra parte, la trombosis, de aparición tardía y escasamente descrita en estudios en ratas, probablemente se deba a que los periodos de observación publicados son en general cortos, pero sí se ha descrito en estudios en humanos que viven a gran altura (León- Velarde y Arregui, 1994; Anand et al., 2001), apareciendo en este estudio como un fenómeno importante y su magnitud se asocia al mayor tiempo de exposición en el tipo de turno; y además aparece en menor proporción y en forma más retardada, en los turnos intermitentes en relación al turno de hipoxia crónica. La presencia de trombosis pulmonar, así como la encontrada en otros parénquimas, puede explicarse por una mayor viscosidad (efecto de la policitemia) o una mayor agregación plaquetaria en hipoxia crónica (Dunleavy et al., 2005).

4.4.3. Hígado

También es conocido, aunque menos descrito en ratas y humanos, que la hipoxia de diferentes tipos, afecta al parénquima hepático, provocando alteraciones funcionales y morfológicas (Ohkuwa et al., 2005; Tanne et al., 2005; Tokyol et al., 2005). Sin embargo, no se han publicados comparaciones de los efectos hepáticos de hipoxia hipobárica intermitente con otros tipos de hipoxia.

En este estudio, los hallazgos histológicos encontrados confirman que el hígado también manifiesta los efectos de la hipoxia en ratas. Los fenómenos de congestión y hemorragia son muy precoces en su aparición y están linealmente relacionados al tipo de exposición, es decir, a mayor exposición más precoces son los efectos y mayor es el daño. Probablemente, en la aparición de estas alteraciones estén implicados fenómenos de hipoxia *per se* a nivel celular directo y/o debido a un efecto secundario de la hipertensión pulmonar por hipoxia como se ha referido anteriormente.

La trombosis portal, fenómeno no señalado anteriormente en estudios en ratas, ha sido descrita en seres humanos expuestos a gran altura por Anand et al., 2001, y que en nuestro estudio muestra también una clara asociación con el tipo de exposición y el tiempo transcurrido, indicando que, en exposiciones más prolongadas, mayor es la presencia de trombosis. Este fenómeno, ha sido previamente mencionado en relación al pulmón con su explicación más probable, presenta un momento distinto de aparición en los intermitentes, en

los cuales el turno HCl2X2 es el más tardío. La necrosis, aunque se observan muy pocos casos, muestra una fuerte asociación con la mortalidad, probablemente como resultado de un fallo hepático, fenómeno o alteración aún no descrito para turnos en intermitencia.

4.4.4. Riñón

Al igual que los otros órganos analizados el riñón es afectado por la hipoxia y es notable observar que el turno HCl2X2 es el que presenta menos afectación y por el contrario aquellos con mayores periodos de exposición (HClH4X4 y HC) muestran las mayores proporciones de alteración parenquimatosa.

Diferentes efectos morfológicos, tales como necrosis tubular, alteración glomerular y daño tubulointersticial como se aprecian en nuestros resultados, excepto los cilindros, han sido publicados como el resultado de la hipoxia (Nangaku, 2004), bien por el efecto hipóxico agudo o por atrapamiento de glóbulos rojos y plaquetas en estados policitemicos (Chien y Chen, 1994). Asimismo, se describen alteraciones funcionales como mayor filtración de albúmina (Hansen et al., 1996) o menores aclaramientos (Monge y León-Velarde, 2003), aunque no todos estos estudios están realizados en hipoxia hipobárica.

La presencia de edema y congestión, no obstante la consideración de un episodio agudo viral que afecto al grupo NX en la tercera parte del estudio,

parece ser un fenómeno común y transversal a varios órganos y podría estar relacionado con el mismo mecanismo de hiperpresión retrograda que genera una hipertensión pulmonar hipóxica o efecto hipóxico directo, como se evidencia al analizar el corazón e hígado y se ha discutido en dichos apartados. Sin embargo, resultó extremadamente interesante encontrar cilindros como fenómeno de daño glomerular, ya que no aparece descrito como resultado de la exposición a hipoxia crónica hipobárica en ratas o seres humanos y en este trabajo aparece claramente asociada a la exposición hipóxica. Además, es sorprendente que el turno corto HCl2X2 no mostrara cilindros y por el contrario la mayor parte de las ratas en el turno de hipoxia crónica, estableciendo con ello una gran diferencia de acuerdo al tipo de régimen de exposición y su intensidad.

Como resultado de este estudio, se podría establecer que en hipoxia crónica intermitente a largo plazo el riñón se afecta también y que, a mayor brevedad del régimen de exposición, menor es el daño, lo cual apoya la aplicación clínica de la evaluación renal como método diagnóstico de los efectos de la hipoxia intermitente en altura.

Este trabajo contribuye a establecer las diferencias en ratas entre diferentes regímenes de exposición en hipoxia crónica intermitente en gran altitud (4600m) en un período muy prolongado de observación (12 meses), a través del análisis de los efectos morfológicos. Los resultados muestran la presencia de efectos bien conocidos como de otros no tan conocidos (trombosis hepática y cilindros renales). La mayoría de ellos muestran

diferencias en cuanto a la frecuencia y tiempo de aparición de acuerdo al régimen de exposición, ya que los intermitentes presentan una respuesta de menor intensidad y más retardada que el grupo crónico y también con diferencias entre si según la intensidad de la exposición. Además, se establece que el periodo más corto de intermitencia (HCI2X2) es menos deletéreo que el turno que tiene un mayor periodo de recuperación a nivel del mar (HCI4X4), pero probablemente tiene una mayor proporción de efectos agudos.

Finalmente, si bien estos resultados no pueden ser aplicados totalmente en un ambiente clínico (se sabe que la rata es un animal particularmente sensible a la altura), no puede dejar de señalarse que permiten focalizar algunos puntos de preocupación en el aspecto sanitario en humanos y proporciona importante información para la elección de un turno más “saludable” en CIH.

5. Exposición a Hipoxia Intermitente Crónica en Gran Altura durante más de 12 años: Evaluación de los Efectos Hematológicos y Cardiovasculares.

5. Exposición a Hipoxia Intermitente Crónica en Gran Altura durante más de 12 años: Evaluación de los Efectos Hematológicos y Cardiovasculares.

5.1. Introducción

Relativamente pocas investigaciones han evaluado los efectos de la hipoxia crónica intermitente como situación de trabajo en una forma integral (Nebauer, 2001) y no existen publicaciones de evaluaciones a largo plazo. El único estudio que agrupa varios aspectos corresponde a una cohorte de mineros seguidos por dos años y medio en turnos de 7x7 días en altura y a nivel de mar (Richalet et al., 2002) que evalúa aspectos: hematológicos, hormonales, cardiovasculares, sintomatología de altura y calidad de sueño. Además, algunos aspectos específicos han sido evaluados por otros autores, en las áreas hematológicas y cardiovascular (Schmidt, 2002 y Heinicke et al., 2003), en el área de la morbilidad general (Siqués y Brito, 2001) y los efectos ecocardiográficos en circulación pulmonar con ecocardiografía doppler en una cohorte de 26 trabajadores mineros seguida por 3 años en un sistema de turno de 4 semanas en altura de 3700 m a 4200 m y 4 semanas a nivel de mar (Sarybaev et al., 2003).

Los estudios transversales muestran que el hematocrito se encuentra elevado a 3550 m (Heinicke et al., 2003) y con valores similares a residentes chilenos a esa misma altura (Schmidt, 2002). Los estudios de cohorte en mineros chilenos revelan un hematocrito moderadamente elevado, leve mayor

tensión arterial sistémica, aumento leve del grosor del ventrículo derecho, enfermedad aguda de montaña (EAM) y alteraciones del sueño que permanecen sin modificación (Richalet et al., 2002). En el otro estudio de cohorte de mineros, se señala una hipertensión pulmonar hipóxica leve reversible a nivel de mar (Sarybaev et al., 2003). Se desconoce, si esta condición representaría cambios o adaptaciones en el ser humano a largo plazo, ya estas sean reversibles o definitivas (West, 2002).

Sin embargo, no se encuentran publicaciones o estudios integrales de sujetos que lleven largos periodos de exposición a la altura en forma intermitente crónica y dada la dificultad de seguir una cohorte durante 12 años, es por lo que se planteo el presente estudio transversal con el objetivo de evaluar, el estado biológico y de salud de sujetos del Ejército de Chile que llevan trabajando más de 12 años (promedio 25 años) en un sistema de turnos de 4 días en altura y 3 días de reposo a nivel del mar, a 3550 m , a través de las variables cardiovasculares, hematológicas, bioquímicas y sintomatología de altura, como una manera de ir construyendo una historia natural de este sistema de exposición y tipo de turno.

5.2. Materiales y Métodos

5.2.1. Grupo de estudio y diseño

El diseño del estudio ha sido de tipo transversal. La población estudiada corresponde a 50 sujetos que trabajan en el Ejército de Chile, sanos al ingreso

a la institución, sometidos a examen preventivo anual de salud, y que han permanecido expuestos a hipoxia hipobárica en forma intermitente por un periodo igual o superior a 12 años; en un sistema de turno de 4 días en altura en la localidad de Putre (3550 m) y 3 días de descanso a nivel de mar en la ciudad de Arica, Chile.

5.2.2. Variables:

Por cada sujeto se registraron diferentes variables que podemos clasificar en generales y específicas (cardiovasculares, hematológicas, bioquímicas y de función renal), así como sintomatología de enfermedad aguda montaña:

5.2.2.1. Variables Generales

Edad (años), peso (Kg.), talla (m), años de exposición a la altura (años) y condición de fumador (S/N); el índice de masa corporal fue calculado en Kg/m^2 .

5.2.2.2. Variables Cardiovasculares

La presión arterial sistólica (PAS) y la presión arterial diastólica (PAD) fue medida en el brazo derecho en los sujetos sentados después de 5 minutos de reposo, utilizando un esfigmomanómetro de mercurio con un mango adecuado. La frecuencia cardiaca (FR) y la saturación de oxígeno de la hemoglobina (SaO_2) fue medida con un oxímetro (POX050, Medaid®). Para el análisis se utilizó el promedio de las tres medidas de cada variable con un intervalo de dos minutos, ya que las diferencias entre las 3 presentaba poca

variabilidad. Las mediciones se realizaron en altura, el día 1° y día 4° y a nivel del mar, el día 1°. Los sujetos a nivel de mar fueron sus propios controles.

5.2.2.3. Ecocardiografía

Un ecocardiograma fue realizado a nivel de mar el día 1°, por 2 cardiólogos, utilizando un modo M y ecocardiografía doppler con un ecocardiógrafo Toshiba®, modelo sonolayer SSH14-0A. Los sujetos fueron examinados en la posición estándar que incluye la visión de las 4 cámaras. La presión media de la arteria pulmonar (PAPm) fue calculada de acuerdo a la fórmula de Kitabatake (Kitabatake et al, 1983). Se consideró una PAPm anormal si tenía >20 mm Hg y se diagnosticó hipertensión pulmonar (HP) si los sujetos tenían los siguientes criterios: PAPm ≥ 25 mm Hg, agrandamiento del ventrículo derecho (RV) y auricular derecha (AD), de acuerdo a los criterios del Consenso de la Convención de Venecia (McLaughlin, 2004) y de la Guías de Práctica Clínica; ACCP Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (McGoon et al, 2004).

5.2.2.4. Variables Hematológicas y Bioquímicas

Una muestra venosa sanguínea fue tomada a nivel de mar el día 1°. Un contador hematológico automático (Cell-dyn 3700, Technigen®, USA) fue utilizado para el recuento de la serie roja y blanca y para la determinación de lípidos un kit (Chemelex®, Barcelona) con un multi-analizador (Selectron XL, Technigen®, USA).

5.2.2.5. Estudio de Función Renal

Se efectuó un aclaramiento de creatinina de 24 hrs. a cada uno de los sujetos a nivel de mar, utilizando el método de Jaffe para la medición de creatinina y el aclaramiento fue calculado con la fórmula de Crockcroft y Gault, 1976.

5.2.2.6. Estudio de Sintomatología de altura

Se aplicó el test de autopercepción de EAM de "Lake Louise" (Anonymous, 1992), el 1º día en altura después de haber dormido una noche en esta condición (18 hrs.), el 2º día y el 4º día (ultimo día). Este fue repetido a nivel de mar el día 1º, 2º y 3º (último día). Se consideró Enfermedad Aguda de Montaña (EAM), la presencia de cefalea más otro síntoma (Hackett, 2003). Se utilizó el cuestionario de Spiegel modificado (Richalet et al., 2002) para evaluar el estado de sueño, en los mismos periodos que la prueba anterior.

5.2.2.7. Estudio de Historia Médica

Se revisó el registro del historial medico de las consultas y enfermedades por año de aparición, como una manera de obtener antecedentes para la discusión de los resultados.

Todos los participantes fueron voluntarios, los sujetos fueron informados acerca del estudio y firmaron un documento de consentimiento. El diseño de este protocolo contó con la aprobación del Comité de Ética de la Universidad Arturo Prat, Iquique, Chile.

5.2.3. Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico, se utilizó el programa estadístico SPSS, versión 12.0. (SPSS, Inc., Chicago, Ill). Los promedios, desviación estándar, error típico e intervalos de confianza de la media fueron calculados para cada parámetro. Se estableció la normalidad de las variables utilizando la prueba de Kolmogorov–Smirnov. Para estudiar las diferencias de FC, PAS, PAD y SaO₂, entre los distintos periodos se utilizó el análisis de la varianza mediante ANOVA de medidas repetidas y para las diferencias en las proporciones, la prueba de Chi cuadrado de McNemar.

También, se establecieron correlaciones entre diferentes variables utilizando la correlación de Pearson. Con el objetivo de analizar la asociación entre algunas variables dependientes (dicotomizadas según puntos de corte de los valores patológicos) y otras variables significativas después de un análisis bi variado, se realizó un análisis multivariante mediante regresión logística. Los resultados se presentan como crudos (ajustados entre si), Odds ratio (OR) y sus intervalos de confianza del 95% de confianza (IC). El nivel de significación fue establecido a un 95% de confianza, p-valor <0.05.

5.3. Resultados

El grupo presenta un promedio de edad de 48.7 ± 2.0 y muestra sobrepeso en el 66%. El promedio de años exposición a la altura ha sido de 22 ± 5.8 años (más del 50% llevaba 25 años o más en altura), Tabla 6.

Tabla 6.- Características generales del grupo estudiado: Edad (años). Índice de masa corporal (IMC, Kg. /m²), años de altura y condición de fumador (Si/No). Los valores son promedios \pm DS; proporciones (%).

	$\bar{X} \pm DS$	Rango	(%)
Edad	48.7 ± 2.0		
		<45	2
		45-50	78
		>50	20
IMC	26.3 ± 2.3		
		20-24	34
		25-29	58
		30-34	8
Años de Altura	22.1 ± 5.8		
		13-14	12
		15-25	38
		>25	50
Fumador		Si	52
		No	48

5.3.1. Variables cardiovasculares

Los promedios de la PAS a nivel del mar y en altura se encuentran dentro de los rangos normales esperados para esa edad y son similares a los encontrados en la misma edad en poblaciones de nivel de mar. Sin embargo, un aumento de la PAS el día 1° de exposición en altura es evidente ($p < 0.001$), recuperando el valor de nivel del mar el día 4° ($p < 0.01$). La distribución intra sujetos por categorías, muestra un elevado porcentaje (42%) con PAS por sobre 130 mm Hg. ($p < 0.001$). La PAD presenta similar comportamiento con una elevación el día 1° en altura ($p < 0.001$), recuperando el valor de nivel de mar el día 4° ($p < 0.001$). La distribución intrasujetos por categoría de hipertensión, muestra un menor porcentaje de sujetos (20%) con PAD sobre 90 mm Hg ($p < 0.05$). Tabla 7

La frecuencia cardiaca, aunque en rangos normales, también se eleva el día 1° en altura ($p < 0.001$) descendiendo al día 4°, sin recuperar el valor de nivel del mar ($p < 0.001$) y la SaO₂ muestra un descenso significativo el día 1 ($p < 0.001$) elevándose el día 4° ($p < 0.001$), sin alcanzar los niveles previos de nivel del mar. Destaca, un 16% con saturaciones inferiores al 89% el día 1° en altura.

Tabla 7.- Presión arterial sistólica (PAS), presión arterial diastólica (PAD), frecuencia cardiaca (FC) y saturación de oxígeno de la hemoglobina (SaO₂), en nivel de mar (NM) y al día (D) 1° y 4° en altura. Los valores son promedios \pm error estándar (ES) y p-valor (*p*).

	NM ($\bar{X} \pm ES$)	Altura D 1 ($\bar{X} \pm ES$)	Altura D 4 ($\bar{X} \pm ES$)
	(1)	(2)	(3)
PAS (mm Hg).	122.1 \pm 1.2	127.1 \pm 1.8	122.9 \pm 1.3
	<i>p</i> (1-3) NS	<i>p</i> (1-2) <0.001	<i>p</i> (2-3) <0.001
PAD (mm Hg.).	79.0 \pm 0.9	83.8 \pm 1.3	78.1 \pm 0.9
	<i>p</i> (1-3) NS	<i>p</i> (1-2) <0.001	<i>p</i> (2-3) <0.001
FC (latidos/min)	79.8 \pm 0.3	82.6 \pm 0.4	81.2 \pm 0.3
	<i>p</i> (1-3) <0.001	<i>p</i> (1-2) <0.001	<i>p</i> (2-3) <0.001
SaO ₂ (%)	99.8 \pm 0.08	92.8 \pm 0.6	96.6 \pm 0.5
	<i>p</i> (1-3) <0.001	<i>p</i> (1-2) <0.001	<i>p</i> (2-3) <0.001

5.3.2. Ecocardiograma

Los resultados del ecocardiograma efectuado a nivel del mar muestran los siguientes hallazgos: Diagnóstico de Hipertensión Pulmonar (HP) en un 4% de los sujetos, un 12% de los sujetos con Presión de Arteria Pulmonar media (PAPm) con valores \geq 20 mm Hg, un 48% presentaba Insuficiencia Tricuspeida No Fisiológica (ITNF) y en el 12% un Grosor Ventrículo Derecho (GVD) \geq 40 mm, Tabla 8. El análisis multivariado mediante regresión logística, de la PAPm (valor de corte 25 mm Hg), con todas las variables del estudio significativas,

ajustada por hábito de tabaco, muestra una asociación solo con los triglicéridos, OR 1.008 (1.002-1.014) y $p < 0.05$, Tabla 10

Tabla 8.- Principales hallazgos ecocardiográficos: Presión media de arteria pulmonar, (mm Hg; PAPm); presencia de insuficiencia tricúspide no fisiológica (ITNF), grosor de ventrículo derecho, mm (GVD), y presencia de hipertensión pulmonar (HP), Total de sujetos N=50. Los valores son número de sujetos con el atributo (n) y proporciones (%).

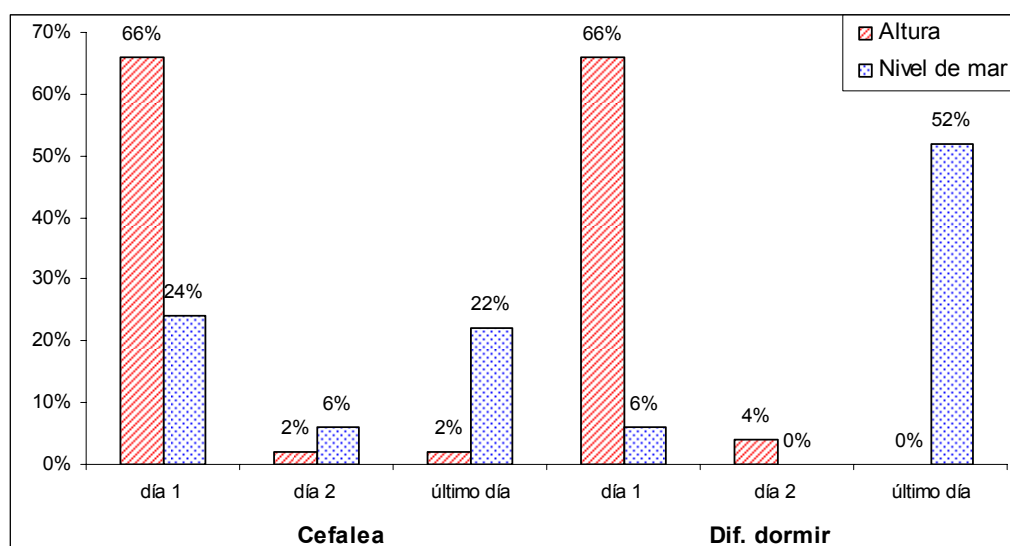
Medidas		n (%)
PAPm	> 20 mmHg	6 (12%)
GVD	≥ 40 mm	6 (12%)
ITN		24 (48%)
HP		2 (4%)

5.3.3. Enfermedad aguda de montaña (EAM) y Sueño

Se encuentra una alta puntuación del cuestionario de autopercepción de EAM el día 1° $p < 0.001$, en comparación con los otros periodos, apreciándose una incidencia de un 60% de EAM en altura, fundamentalmente del tipo moderada (40%) que casi desaparece el 2° día. Aquellos que tenían EAM eran 30 sujetos con una puntuación media de Lake Louise de 5.4 ± 0.42 puntos (rango 2-10). La cefalea es un síntoma muy importante el día 1° (66%) junto a la alteración de la calidad de sueño (66%; $p < 0.001$), aunque estas últimas variables incluían a 3 sujetos sin EAM, Fig. 8. Además, se ha encontrado el día 1° una débil correlación entre SaO_2 y la puntuación de EAM ($r^2 0.096$, $p < 0.05$),

y entre la SaO₂ y la puntuación del cuestionario para desordenes del sueño (r^2 0.114, $p < 0.05$).

Fig. 8.- Comparación de proporciones (%) de cefalea y dificultad para dormir en altura y a nivel de mar (NM) en día 1°, 2° y último día (día 4° en altura y día 3° a NM).



5.3.4. Hematología y bioquímica

Se observa un hematocrito (Hct) mayor a 45% y una hemoglobina (Hb) mayor a 14 mg/dl, en el 60% de los sujetos y solo un 6% presenta valores de Hct mayores de 50%. El promedio de creatinina está en nivel limite de lo normal (1,1 mg/dl), con un 48% de los sujetos sobre el valor normal (hasta 1.1 mg/dl) y un 26% presenta valores de aclaramiento en limite inferior (<90ml/min) y un 8.5 % presentaban signos de daño renal leve (bajo 80 ml/min.), Tabla 9.

El estudio del perfil lipídico revela un valor promedio elevado (238.0 mg/dl) en los triglicéridos y un elevada proporción (60%) con valores superiores a 150 mg/dl (límite superior normal), Tabla 9. La regresión logística de los triglicéridos (punto de corte 150 md/dl) como variable dependiente, con todas las variables significativas y ajustada por habito tabáquico, muestra una asociación inversa (beta - 0.2659) con la SaO₂ el día 1° en altura, OR 0.767 (0.596-0.967), (p<0.05); y un incremento concordante con el colesterol total, OR 1.03 (1.005-1.055) (p<0.05), Tabla 10

Tabla 9.-Medidas hematológicas y bioquímicas: Hematocrito (Hct), concentración de hemoglobina (Hb), leucocitos totales, colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, triglicéridos, razón de colesterol total/colesterol-HDL creatinina plasmática, aclaramiento de creatinina, puntuación de ecuación Framingham por categorías; Los valores son promedios \pm DE.

	$\bar{X} \pm DE$
Hct (%)	45.02 \pm 2.7
HB (g/dl)	15.1 \pm 1.0
Leucocitos (por mm ³)	7480 \pm 1848
Colesterol total (mg/dl)	191.3 \pm 39.3
Colesterol- HDL (mg/dl)	40.2 \pm 6.7
Colesterol- LDL(mg/dl)	109.6 \pm 26.9
Triglicéridos (mg/dl)	238.0 \pm 162.8
Col/HDL	4.8 \pm 1.0
Creatinina (mg/dl)	1.1 \pm 0.1
Aclaramiento de Creatinina (ml/min)	96.8 \pm 19.8
Framingham (puntuación)	4.6 \pm 1.2

Tabla 10: Variables en el modelo final de regresión logística. Variable dependiente: (A) presión de arteria pulmonar (PAP) (cat $><25\text{mmHg}$); (B) triglicéridos (cat $><150\text{mg/dl}$); coeficiente de regresión (*B*); Error típico de beta (ET), OR , IC para OR al 95% y p-valor.

(A)

Variables	<i>B</i>	ET	OR	95 % CI	<i>P</i>
Trigliceridos	0.008	0.003	1.008	1.002–1.014	0.014

(B)

Variables	<i>B</i>	ET	OR	95 % CI	<i>p</i>
SaO ₂ Dia 1°	-0.265	0.129	0.767	0.596–0.967	0.039
Colesterol Total	0.029	0.012	1.030	1.005–1.055	0.018

5.3.5. Patologías.

Las tres patologías más frecuentes fueron: Traumatismos (22%), Hipertensión Arterial (HTA) en 20% y Úlcera Gastroduodenal (20%).

5.4. DISCUSIÓN

Este es el primer estudio epidemiológico que busca evaluar en forma integral, el estado de salud en sujetos sometidos a exposición crónica intermitente durante más de 12 años y revela que, a pesar del tiempo transcurrido, aún persiste una reacción aguda a la exposición y un inexplicado

aumento de los triglicéridos. Fueron encontrados, algunos elementos objetivos de anomalías de la circulación pulmonar: un 4% de hipertensión pulmonar, un 12% de PAPm > 20 mm Hg en reposo, un 48% de Insuficiencia tricuspídea no fisiológica y un 12% de grosor de ventrículo derecho \geq 40 mm. Igualmente, se observó una pequeña alteración de la función renal.

La exposición intermitente crónica a hipoxia hipobárica, a diferencia de la exposición aguda y de la crónica, aunque fisiológicamente pareciera implicar, el poner a prueba los mecanismos de adaptación crónica y aguda y conseguiría después de transcurrido un periodo importante de sus vidas una aclimatación definitiva con mecanismos adaptativos que lo sustenten (Powell y Garcia, 2000), pero, nuestros resultados sugieren que a largo plazo la exposición intermitente, no es capaz de disminuir la EAM con cada ascenso y podría tener algunos efectos patológicos menores en la circulación pulmonar. Estos sujetos no llegan a aclimatarse como ocurre en grupos poblacionales que residen en altitud (León-Velarde y Arregui, 1994). Con este planteamiento y dados los resultados encontrados, se ha dividido la discusión para una mejor comprensión en: fase aguda del impacto, exposición crónica y las ulteriores repercusiones biológicas o sanitarias de ambas.

5.4.1. Respuesta de aclimatación aguda

Las respuestas encontradas en el presente estudio, muestran un patrón de aclimatación, caracterizado por un impacto inicial seguido por la normalización rápida de las variables comprometidas a partir del día 2°. Esta

respuesta se aprecia el día 1° de turno con una elevación de la frecuencia cardíaca, junto a una elevación de la PAS y PAD y una menor SaO₂ con un mayor porcentaje de EAM que lo publicado para recién llegados a la altura (34%) después de 12 horas (Hackett, 2003) y una importante alteración de la calidad de sueño. Este tipo de compromiso inicial es bastante similar a lo descrito para exposición aguda en alpinistas (Hackett, 2003), sin embargo, parece que la respuesta de aclimatación es más rápida en el grupo en estudio (a partir del segundo día) y probablemente esto corresponda al modelo de aclimatación de este grupo intermitente crónico.

Merece mención especial la comparación del comportamiento de la cefalea y de los trastornos del sueño en altura y a nivel del mar, considerando que la cefalea (Hackett, 2003) y el sueño (Weil, 2004) puede considerarse un relevante síntoma marcador de los efectos de hipoxia en altura. Aunque el comportamiento encontrado es similar a lo comunicado por Richalet et al, 2002, en el presente estudio destaca una mayor incidencia de estos síntomas y su casi total desaparición al día 2°, junto a una relativa mayor incidencia de estos síntomas el día previo al turno. Esta última observación, puede representar una especie de fenómeno psicológico del tipo “preagonístico” y que además tiende a presentarse en mayor proporción en los sujetos que desarrollan cefalea en altura ($p < 0.05$), Fig. 8

Estos resultados, muestran claramente que a pesar del tiempo transcurrido (25 años promedio), los sujetos en este tipo de exposición intermitente crónica, aún muestran fenómenos de desadaptación aguda. La

razón para la ausencia de aclimatación o acostumbramiento, no está descrita detalladamente en la literatura y puede generar la hipótesis que con este régimen de exposición se pierden o disminuyen (al descender a nivel del mar) algunos mecanismos “rápidos o cortos” de adaptación o incluso puede que se encuentran ausentes. Probablemente, la persistencia de EAM en cada ascenso puede indicar alguna probable pérdida de la quimiosensibilidad de los receptores periféricos al transcurrir el tiempo, comparable con los residentes habituales, como resultado, de una pérdida gradual de la respuesta ventilatoria a la hipoxia, que es consistente con lo observado de una elevada frecuencia de bajas SaO₂ en el día 1°. Los mecanismos moleculares para lo anterior, le atribuyen un papel mayor a la transcripción del factor redox-sensible como HIF-1 y la activación de algunos genes específicos (Prabhakar y Kline, 2002), pero la confirmación o no de estos mecanismos están fuera del alcance de este estudio epidemiológico.

Por otra parte, sorprendentemente, nuestros resultados no señalan que la exposición intermitente crónica contribuiría a una disminución del impacto agudo y en especial de la EAM tal y como se ha descrito (Beidleman et al., 2004). Por lo tanto, la falta de una apropiada aclimatización el primer día de exposición se señala como un punto importante a considerar en el estado de salud laboral en éste tipo de exposición, considerando que una parte importante de los sujetos sufrirán los efectos de la altura el primer día.

5.4.2. Respuesta de aclimatación largo plazo

La respuesta de aclimatación a largo plazo en exposición crónica, en sujetos residentes habituales, o no residentes, muestra los siguientes efectos secundarios: una policitemia, disminución de la PAS, hipertensión pulmonar de altura, enfermedad de Monge y alteración de la función renal (Monge y León-Velarde, 2003). Para la exposición crónica intermitente, se describe una elevación moderada del hematocrito, una leve dilatación del VD, y mayores presiones de AP (Richalet et al., 2002; Schmidt, 2002; Sarybaev et al., 2003).

La modificación de las variables encontradas en nuestro estudio, muestran bastante coincidencia con la literatura, pero con algunas particularidades que se analizan a continuación. Así, el hematocrito y hemoglobina, alcanza un menor valor (intermedio) en la mayoría de los sujetos respecto a los residentes de altura sobre 4000 m (Vásquez y Villena, 2001), que es similar a lo encontrado en nuestro modelo animal en ratas (Siqués et al., 2006). En cuanto a la tensión arterial, no se aprecia una respuesta hipertensiva permanente, que sería la tendencia esperada en comparación con el resultado en la cohorte de mineros (Richalet et al., 2002) y otros trabajos epidemiológicos que describen una menor presión sistémica en residentes crónicos (Monge y León-Velarde, 2003). Mas aún, el promedio de presión sistólica en el grupo estudiado es menor que el promedio de la población de Chile de la misma edad y género (139 ± 1.5 mm Hg; MINSAL, 2003).

Se describen elevados niveles de triglicéridos en altura comparados con nivel de mar (Cáceres et al., 2004) y esto también se ha visto en ratas expuestas a hipoxia intermitente (Li et al., 2006), aunque existen publicaciones contradictorias que revelan disminución de los lípidos en general y de los triglicéridos en particular después de una exposición a hipoxia en cámara hipobárica (Tin'kov y Aksenov, 2002). Se ha descrito, una influencia hormonal de los lípidos por la hipoxia (Ferezou et al., 1988) que podría explicar el elevado nivel plasmático de triglicéridos encontrado en este estudio, y también un menor uso de los triglicéridos en la producción de energía en concentraciones bajas de oxígeno (Murray et al., 2003). Debe además agregarse que los resultados promedios de triglicéridos encontrados son mayores que los promedios de la población general de la misma edad y género (175 mg/dl, MINSAL, 2003), pero que esto es coincidente con los valores encontrados en residentes y nativos de nivel del mar que trabajan en altura (Cáceres et al., 2004). Desde el punto de vista biológico, esta elevación pudiera ser el reflejo de una respuesta adaptativa no suficiente a la hipoxia, y a su vez, un probable indicador bioquímico de esta interacción. Esta asociación, se demuestra claramente al encontrar una correlación negativa entre triglicéridos y SaO_2 ($r -0.3$, $p < 0.05$).

Complementariamente, y para tener una apreciación objetiva del riesgo cardiovascular en esta población, se aprecia que utilizando el índice de Framingham por categorías (Wilson et al., 1998) la puntuación media encontrada es de 4.6 ± 1.2 pts, y los sujetos en nuestro estudio muestran un índice promedio de riesgo relativamente bajo (media de posibilidad de evento:

8.6±5.6), y que, al compararlos con la población chilena, que utiliza como punto de corte el 10% de riesgo de evento, y estratificar por grupos de mayor o menor riesgo, muestran riesgos similares (43% de sujetos en mayor riesgo) (MINSAL, 2003). De lo anterior puede deducirse, que la exposición a hipoxia intermitente crónica no proporciona un riesgo cardiovascular especial para este grupo si no se cuenta con los triglicéridos en la ecuación.

Otra variable, que pareció levemente comprometida, fue la función renal ya que un 48% de los sujetos tienen creatinina plasmática superior a 1.1 mg/dl y un 26% con un aclaramiento de creatinina inferior a 90 ml/min e incluso un 8% inferior a 80 ml/min. Una disminución del aclaramiento renal también fue publicado en el estudio de cohorte de Richalet et al., 2002 de exposición intermitente durante dos años, además de una disminución del volumen de filtración glomerular descrito en poblaciones expuestas a hipoxia crónica (Monge y León-Velarde, 2003). Si, nuestro hallazgo se demuestra consistente en investigaciones futuras, la medición de la función renal debería considerarse en el estudio de las condiciones de salud de sujetos que están expuestos a condiciones de altura.

5.4.3. Hipertensión Pulmonar

Finalmente, la literatura muestra que la hipoxia crónica puede producir una remodelación de la circulación pulmonar, provocando hipertensión pulmonar de altura (Peñaloza et al, 1963, León-Velarde et al., 2005). Sin embargo, existe poca evidencia a largo plazo de exposición a hipoxia

intermitente. La información muestra que a menos de 3 años, se produce un engrosamiento del ventrículo derecho (Richalet et al., 2002) y con turnos en altura de 30 días, una elevación de la PAPm, reversible a nivel del mar (Sarybaev et al., 2003). Nuestros resultados muestran hipertensión pulmonar diagnosticada en un 4% del grupo, lo que comparado con el valor teórico de la población general (0.02%) es bastante elevado (Runo y Loyd, 2003). También, como una alerta que merece ser considerada en el futuro, se aprecian otros signos ecocardiográficos que sugieren hipertensión pulmonar: PAPm > 20 mm Hg en reposo (12 %), Insuficiencia Tricuspeida no Fisiológica (48%), Grosor de ventrículo derecho mayor 40 mm. (12%), llamando la atención que la mayoría de los sujetos con PAPm elevadas tiene menos de 20 años en altura. Aunque, estos valores fueron medidos a nivel del mar por razones de disponibilidad de equipo y que la ausencia de grupo control representa una debilidad de nuestro estudio, son sin duda igualmente indicadores de un efecto y que si fueran medidos en altura quizá pudieran ser mas elevados o bien encontrados en mayor proporción, de acuerdo a lo publicado por Sarybaev et al., 2003. Los rangos de PAPm encontrada, son equivalentes a los descritos en alturas similares (Hultgren et al., 1965) pero menores que en mayores alturas (Peñaloza el al., 1963), aunque pueden estar involucradas algunas diferencias étnicas e individuales (Sarybaev et al., 2003). Además, la asociación encontrada entre los triglicéridos y PAPm también puede indicar una contribución de la condición hipóxica, como fue discutido anteriormente.

Por lo tanto, este tipo de exposición intermitente en altura, durante un largo plazo, parece tener un efecto remodelador o hipertensivo en la circulación

pulmonar de algunos sujetos. Si este efecto, es reversible o definitivo, el tiempo del estudio y las condiciones laborales no permiten responderlo en este momento. Asimismo, es materia de una investigación en curso, si la respuesta en este tipo de exposición es diferente o no a los residentes habituales de altura.

Este es el primer estudio epidemiológico que integra varias variables, en sujetos expuestos por razones de trabajo a intermitencia crónica, durante más de 12 años (mayoría >20 años) a una altura de 3550 m, y muestra que, a pesar del tiempo transcurrido, un elevado porcentaje tiene afectación aguda por la hipoxia el primer día (sin lograr una total aclimatación), pero que se compensa rápidamente al segundo día (probablemente sea el modelo de adaptación). Asimismo, los parámetros hematológicos adquieren una posición intermedia entre la exposición crónica y nivel del mar. Resulta relevante que exista una alteración de la función renal, la elevación de los triglicéridos y la presencia de eventuales signos de hipertensión pulmonar de altura. Aunque, estos resultados pueden ser considerados como preliminares, por la ausencia de un grupo control, ellos contribuyen con información relevante y complementaria al estudio de esta situación laboral y a la construcción de la historia natural de esta condición. Asimismo, apoyan también el introducir dentro del examen laboral la evaluación ecocardiográfica y de la función renal, al transcurrir un periodo razonable de exposición (tres años).

6. Discusión General de la Tesis

6. Discusión General de la Tesis

La presente Tesis Doctoral, se origina en una nueva situación laboral y de salud en Chile y como también en otras partes del mundo, que es la exposición a hipoxia hipobárica crónica intermitente a gran altura durante largos periodos vitales, de sujetos que son originarios del nivel del mar y de la cual por ser una situación relativamente reciente, se cuenta con poca información. Es por ello, que esta tesis planteó 3 investigaciones: una primera, para obtener una visión epidemiológica del comportamiento de las enfermedades comunes y algunas propias de la altura, en mineros sometidos a esta condición; una segunda con un estudio experimental en un modelo animal que permitiera ver efectos morfológicos y comparar los diferentes sistemas de exposición a la hipoxia hipobárica intermitente y una tercera, para evaluar mediante un estudio transversal, la evolución de determinadas variables que se conocían se afectaban por la exposición a la hipoxia, pero no cual era su comportamiento a largo plazo en un sistema de exposición intermitente,.

Si bien cada objetivo se ha planteado en un apartado y sus resultados fueron discutidos en el apartado correspondiente, se hace imprescindible la integración de algunos resultados para una mejor comprensión y tener una visión global del tema.

Nuestros resultados muestran que la exposición a la altura en forma intermitente tiene respuestas comunes a cualquier tipo de exposición, y otras

también en forma mas bien específica de acuerdo al tiempo transcurrido y al sistema de exposición a la intermitencia, destacando por tanto que este tipo de exposición conllevaría un tipo de adaptación propia. Por ello, la discusión general se ha aplicado a las variables mas destacadas.

6.1. Frecuencia de enfermedades

Diferentes estudios, señalan condiciones mórbidas, que se atribuyen a la hipoxia en altura, sea aguda o crónica (enfermedad aguda de montaña, enfermedad crónica de montaña, edema agudo pulmonar de altura, entre las principales), (Brundett, 2002; Monge y León-Velarde, 2003) y algunas otras alteraciones relacionadas con esta exposición y/o aspectos ambientales (lesiones actínicas, lesiones neurológicas) (Bansyat et al, 2000). Igualmente, algunos estudios epidemiológicos focalizados señalan asociación de esta exposición con la presencia de hipertensión arterial, enfermedades gastrointestinales, respiratorias, trauma y alteraciones metabólicas, entre otras (Marticorena et al 1969; Calbet, 2003; Temte, 1996; Caceres et al, 2004; Hochedez et al, 2004; Sadnicka et al, 2004), aunque dichos estudios, no abordan en forma específica, la frecuencia o la carga de salud general.

Este estudio representa una primera investigación epidemiológica, sobre morbilidad y carga de salud en trabajadores mineros expuestos a exposición intermitente crónica a gran altura. Nuestros resultados globales muestran claramente que en esta condición laboral se presenta un mayor exceso de consultas, tanto en números absolutos como por morbilidad e, indirectamente,

un mayor riesgo de enfermar; representado un aumento de carga para los sistemas sanitarios. La mayor incidencia global y específica por grupos de morbilidad encontrada en la condición de intermitencia, contrasta con estudios chilenos en trabajos similares de minería en altura (Cantuarias y Cornejo ,1993) y también en centros de salud a nivel del mar (MINSAL, 2003), en donde la distribución de la morbilidad tiende a ser similar, pero las proporciones son bastante menores y, lamentablemente no ha sido posible encontrar estudios en trabajos en altura con un diseño similar al nuestro. En forma destacada debe mencionarse que la mayor carga de morbilidad está dada por las enfermedades del sistema respiratorio, con una magnitud sobre el 50% del total y una elevada incidencia, que claramente contrasta con el grupo control y los estudios en población a nivel del mar (MINSAL, 2003), que aunque también tienen a las enfermedades respiratorias como la primera causa de consulta o enfermedad, tienen una magnitud menor. La patologías respiratorias predominantes en este tipo de exposición intermitente son las agudas del tracto superior, siendo bastante coincidente con lo encontrado en escaladores en la región de Nepal (Murdoch, 1995).

Por otra parte, nuestros resultados no muestran la presencia de enfermedades crónicas de altura tales como policitemia e hipertensión pulmonar de altura, pero, por el contrario, se puede apreciar la existencia de una variada gama de patologías, incluyendo aquellas propias de la altura como la EAM hasta lesiones actínicas propias del factor ambiental de la exposición, debiéndose mencionar que la duración del estudio fue de dos años y esto podría explicar la ausencia de patologías crónicas de altura, a diferencia de lo

observado en el modelo animal y en el estudio de expuestos a más de 12 años. No obstante, en la condición de intermitencia crónica del presente estudio, se encuentra bastante coincidencia con algunos aspectos de salud publicados en una condición de exposición crónica, en uno de los mayores estudios epidemiológicos sobre el tema, realizado en Cerro de Pasco, Perú, a 4338 m (León-Velarde y Arregui, 1994), en población de mineros y otros, en el que se señala que la exposición crónica traería como consecuencia mayores problemas de salud, enfermedades específicas asociadas a la altura (cefalea) y otras comorbilidades (enfermedades respiratorias), excepto en la enfermedad crónica de montaña. Aunque era presumible una variada morbilidad en esta nueva condición en estudio, así como ha sido descrita extensamente en la literatura para otro tipo de exposiciones (aguda y crónica), no se conocía si presentaría o no una similitud o diferencias respecto a los otros tipos de exposición. En este sentido, el presente estudio, complementa al estudio de León-Velarde y Arregui, 1994, y además se aprecia una coincidencia en la presencia de una mayor morbilidad general y a su vez, es una aportación al conocimiento del comportamiento epidemiológico de las enfermedades y de la carga de salud esperable en la situación que hemos estudiado. No obstante, como se señalará más adelante, a largo plazo, transcurridos más de 12 años de exposición a esta condición, aparecen algunas manifestaciones “crónicas” preocupantes como la hipertensión pulmonar, destacando además que los sujetos no muestran en su historia personal una prevalencia especial de las patologías que se encontraron en el estudio de 2 años, como tampoco otras patologías diferentes.

Por otra parte, se demuestra que la mayor incidencia de la gran mayoría de las patologías, tendrían una importante explicación y asociación demostrable estadísticamente con la exposición o la condición de trabajo en altura, a la vez que las otras variables como biodemográficas, turno, situación de salud y sistemas sanitarios han sido ajustadas y comparadas con el grupo control. Esto abre un campo importante de futuras investigaciones, para explicar esta mayor morbilidad, ya sea por la condición de intermitencia o por efectos secundarios no bien conocidos de la hipoxia, de los cuales se han publicado algunos tales como alteración de la respuesta inmunológica (Thacke et al., 2004), trastornos oculares o neurológicos (Basnyat et al., 2000) o como consecuencia de las mismas condiciones ambientales: temperatura, humedad ambiental y radiación ultravioleta (Deng et al., 2006).

Asimismo, la revisión de este tema, ha proporcionado información, desconocida hasta la fecha, que permite orientar tanto a la correcta provisión de los recursos sanitarios como a medidas preventivas requeridas en circunstancias similares, en el presente y para el futuro.

6.2. Enfermedad aguda de montaña, cefalea y alteración del sueño

La enfermedad aguda de montaña (EAM), es un fenómeno propio de la exposición aguda a la altura (Hackett, 2003, Bartsch et al., 2004) y es esperada su manifestación en una prevalencia variable, dependiendo de factores individuales tales como la velocidad del ascenso, exposiciones previas, la altura de exposición, variación racial (Moore et al., 1998) y finalmente por un

fenómeno de adaptación (Beidleman et al., 2004; Gaillard et al, 2004), aunque Richalet et al., 2002, encuentra que en la exposición intermitente la proporción, durante dos años de seguimiento, permanece constante. La EAM se define y se caracteriza por la presencia de cefalea mas otro síntoma (nauseas, mareos, vómitos, dificultad para dormir) y su medición se realiza a través de un instrumento de autopercepción denominado cuestionario de Lake Louise, que otorga una puntuación (Roach et al.,1998). Asimismo, se han considerado como marcadores de efecto de hipoxia o altura, a la cefalea (Hackett, 2003) y a los trastornos del sueño (Weil, 2004).

Respecto a esta entidad nosológica, característica de la exposición a la altura, se observan algunas diferencias entre ambos grupos intermitentes en la presente tesis. Por una parte, en el estudio de morbilidad de los mineros durante 2 años, se observa una menor prevalencia que lo publicado para la exposición aguda (Hackett, 2003) y en intermitencia por Richalet et al,2002. Algunas explicaciones probables para ello pueden encontrarse en un sesgo de inclusión (infravaloración), ya que solamente se consideraron las EAM moderadas y severas, o que se deba a un fenómeno de adaptación de los trabajadores mineros o también a medidas de autocontrol (como el uso de medicamentos) no investigadas en la presente tesis y que decrecerían artificialmente la incidencia (Gaillard et al., 2004).

Sin embargo, contrasta notoriamente con el estudio de los sujetos expuestos por más de 12 años a un sistema de turnos de 4X3 días, en hipoxia hipobárica intermitente, donde la EAM llega a alcanzar el primer día a una

proporción de 50%, lo cual ha resultado un hallazgo no solo novedoso sino muy inesperado y en contradicción a las publicaciones que señalan que por un fenómeno de adaptación, esta tendería a desaparecer (Powell y Garcia, 2000; Gaillard et al.,2004). Aunque, en esencia coincide con los resultados de una cohorte de mineros en intermitencia (Richalet et al, 2002), demostrando que este fenómeno mórbido de altura, no desaparece con el tiempo, pero en estos sujetos es de rápida resolución, al segundo día, lo cual probablemente sea el nuevo modelo de adaptación en esta condición.

Aunque, la evaluación de la EAM, es mediante un cuestionario de autopercepción y no puede ser medida en el modelo experimental en ratas , es bien conocido que los mismos mecanismos de respuesta a la hipoxia se aprecian en otras manifestaciones clínicas de la EAM, como el edema agudo de pulmón y el edema cerebral (Bartsch et al., 2004). Es por ello, que también resulte importante destacar los hallazgos morfológicos del modelo animal, los cuales podrían representar en alguna medida, lo que ocurre en el ser humano ya que se observa que los fenómenos agudos morfológicos como el edema de pulmón y la congestión parenquimatosa (fenómeno frecuente que se encuentra en autopsias de sujetos que viven en altura, Marticorena et al,1969), tienden a ser más importantes en aquellas exposiciones de más corta duración y que tampoco se observa una disminución en el transcurso del el tiempo, lo cual podría ser un símil de lo encontrado en las manifestaciones mas leves de EAM, mostrado en el apartado de los sujetos expuestos a largo plazo.

Respecto a la cefalea, se considera tanto síntoma cardinal de EAM como igualmente un síntoma aislado de efecto de altura (Basnyat et al, 2000; Hackett, 2003), por lo que se ha considerado su discusión en forma separada en el mismo apartado que el de la EAM. En nuestro estudio de morbilidad de mineros de dos años de estudio, ocupa un importante lugar como causa específica de consulta de los expuestos (prevalencia: 24/1000 individuos) y representa por si solo el 4.4% de las consultas y además destaca con el exceso de riesgo (OR: 9.5) más elevado de todas las morbilidades presentes, con una clara asociación con la exposición ($p < 0.001$). La prevalencia en otros estudios de este síntoma por si solo o como integrante de EAM en agudos, también es bastante elevada, yendo desde un 20 a un 62% (Hackett y Reinnie, 1976; Hackett, 2003), aunque en mineros expuestos crónicamente en forma intermitente se mantiene constante en una menor proporción (Richalet et al., 2002), mientras que en mineros expuestos en forma crónica, llega a alcanzar hasta un 54% (León-Velarde y Arregui, 1994).

Igualmente, este síntoma es muy importante en el grupo expuesto por más de 12 años, en el que destaca junto a los trastornos del sueño en altura (66% para ambos el día 1°) y a nivel del mar, adquiriendo un cierto patrón de comportamiento, con una elevada proporción el primer día de exposición hasta casi su total desaparición al día 2°, una situación no descrita previamente en este tipo de exposición. Lo cual, junto a una relativa mayor presencia de estos síntomas el día previo al turno, constituye una aportación de esta tesis al conocimiento de esta condición. Por otra parte, la observación de cefalea previa a la exposición en una cierta proporción, pudiera estar representando

una especie de fenómeno psicológico del tipo “preagonístico” y que además parecería tener una relación con los sujetos que la desarrollan en altura ($p < 0.05$). La relevancia de la alta prevalencia de la cefalea, que si bien la mayoría de las veces no representa una seria enfermedad, debe considerarse en el contexto laboral por la potencial interferencia con la capacidad de trabajo y productividad y los elevados costos sanitarios que representa por las bajas en situaciones laborales (Gerth et al, 2001; Pradalier et al., 2004). Si a esto se suma, la elevada proporción de sujetos que presenta dificultad para dormir el primer día de altura, la cual tiene una clara relación con la hipoxia (Weil, 2004), nos enfrenta a un problema sanitario de importancia, que incluso puede tener repercusiones en la seguridad laboral (Richalet et al., 2002).

Estos resultados, dejan en claro que a pesar del largo tiempo transcurrido (25 años promedio), los sujetos en este tipo de intermitencia crónica, a largo plazo, aún muestran fenómenos de desadaptación aguda y no logran una total aclimatación el primer día, con un modelo similar de aclimatación como ocurre en grupos poblacionales que residen en forma permanente en altitud (León-Velarde y Arregui, 1994). La razón para la ausencia de aclimatación, no está detalladamente descrita en la literatura y esto puede generar la hipótesis que con este régimen de exposición se pierden o disminuyen (al descender a nivel del mar) algunos mecanismos “rápidos o cortos” de adaptación o incluso definitivamente, puede que se encuentran ausentes. Probablemente, la persistencia de EAM en cada ascenso puede indicar alguna probable pérdida de la quimiosensibilidad de los receptores periféricos al transcurrir el tiempo, comparable con los residentes habituales y,

como resultado, una pérdida gradual de la respuesta ventilatoria a hipoxia (Prabhakar y Kline, 2002). Los mecanismos moleculares para lo anterior, le atribuyen un papel mayor a la transcripción del factor redox-sensible como HIF-1 y la activación de algunos genes específicos (Prabhakar y Kline, 2002), pero la confirmación o no de estos mecanismos están fuera del alcance de esta tesis.

Finalmente, sorprendentemente, nuestros resultados, no demuestran que a largo plazo, la exposición intermitente crónica contribuiría a una disminución del impacto agudo y en especial de la EAM como ha sido publicado (Beidleman et al., 2004). Por lo tanto, este tipo de respuesta en intermitencia es una aportación novedosa y la falta de una apropiada aclimatización el primer día de exposición, se señala como un punto importante a considerar en el estado de salud laboral en éste tipo de exposición, dado que una parte importante de los sujetos el primer día sufrirán los efectos de la altura. Por otra parte, aun quedan por dilucidar los mecanismos fisiológicos y moleculares que sustentan este tipo de observación epidemiológica.

6.3. Regimenes de turno en intermitencia

Es conocido que en la exposición intermitente a largo plazo, existe un espectro variado de tipos de exposiciones o “turnos” que van desde 4 días en altura y 4 días a nivel de mar, hasta turnos de 40 días y por lo tanto es muy importante responder a dos preguntas, una si los efectos a largo plazo son similares o no a los observados en hipoxia crónica, y la otra si existe una diferencia entre los diferentes “turnos” en este tipo de exposición.

A través de un modelo animal, se ha tratado de contestar a estas preguntas, mediante el análisis de los efectos morfológicos producidos en las diferentes exposiciones, y los resultados muestran, en primer lugar, diversos hallazgos morfológicos de los cuales la mayoría, parecen estar relacionados tanto con los cambios esperados en una situación de exposición aguda (Roach et al., 1999) como a efectos directos de la hipoxia (Maggiorini, 2003) y también se observaron cambios morfológicos similares a los publicados en hipoxia crónica (Monge y León-Velarde, 2003). Por otra parte, periodos prolongados de exposición, como es el caso de este estudio experimental, implicarían un desafío importante en la adaptación (Sulkowska, 1997)

En términos generales, nuestros resultados en este modelo animal, muestran la presencia de cambios morfológicos bien conocidos y publicados: congestión, edema, trombosis y hemorragia (Ostadal et al., 1981; McGuire y Bradford, 1999), así como de otros no tan conocidos: trombosis hepática y cilindros renales, que han sido publicados fundamentalmente en humanos (Anand et al., 2002). Estos, ya han sido discutidos detalladamente en el apartado específico y aquellos más revelantes para esta discusión general, por tópicos. No obstante, en términos generales, es importante destacar que en los diferentes “turnos” en intermitencia, ha sido posible observar tanto una variación de cada cambio morfológico de acuerdo al órgano, en cuanto a la frecuencia y el tiempo de aparición. De manera que, los turnos intermitentes presentan una respuesta morfológica de menor intensidad y en forma más retardada que el grupo en condición crónica, siendo además esta respuesta

diferente entre ambos turnos intermitentes, lo cual constituye una aportación importante y novedosa de esta tesis al no existir publicaciones anteriores al respecto. Por lo cual, se puede afirmar que el periodo más corto de intermitencia (HC12X2) es menos deletéreo que el turno que tiene un mayor periodo en altura y de recuperación a nivel del mar (HC14X4), pero probablemente con más efectos agudos. En consecuencia, esta investigación contribuye a establecer que existen notables diferencias entre los diferentes regímenes de exposición en CIH en gran altitud (4600 m) a largo plazo, y por ello se puede aconsejar como un régimen de elección, a aquel que tenga los menos días posibles en altura, presumiblemente en humanos al correspondiente al “turno de 4X4”.

Por otra parte, estos resultados, no permiten apreciar efectos similares con el grupo de morbilidad en dos años, como ocurre con el grupo de 12 años o más de exposición a CIH, donde se observan algunas notables coincidencias respecto a algunos tipos de efectos a largo plazo (hipertrofia ventrículo derecho, daño renal, entre otras), probablemente por el breve periodo de análisis (2 años) y que los que presentaban efectos como edema agudo de pulmón, eran excluidos del trabajo, creando un sesgo de selección. El hecho que, se pudiera demostrar en forma cruzada, similares efectos tanto en humanos como animales, pese a que los diseños de estudio eran diferentes y a su vez la susceptibilidad de las especies (la rata es particularmente sensible a la altura) y que no solo no pudiera hacer comparable los resultados como tampoco extrapolados totalmente a un ambiente clínico), permiten como producto de esta tesis validar el modelo animal propuesto por una parte y por

otra, focalizar algunos puntos de interés sanitario (área cardiovascular y renal), y proporcionar información para la elección de un turno más “saludable” en hipoxia crónica intermitente.

No obstante, este es el primer trabajo que muestra y establece estas diferencias, por lo que serán necesarios nuevos estudios de diseño experimental y longitudinal en humanos, que permitan demostrar la consistencia y la validez externa de los resultados planteados como producto de esta Tesis.

6.4. Repercusiones en la circulación pulmonar o del circuito derecho:

Uno de los órganos que presenta gran importancia en altura y sus consecuentes modificaciones, es el corazón, por la ineludible relación que existe entre el circuito derecho y la hipoxia. Dicha relación establece como mecanismo de respuesta aguda y crónica una mayor sobrecarga del circuito derecho por la constricción de los vasos pulmonares y su posterior remodelación (Peñaloza y Arias-Stella, 2007). En humanos residentes en altura, se encuentra claramente descrita esta entidad nosológica como Hipertensión Pulmonar Crónica de Altura (León-Velarde et al., 2005) y en el caso de exposición aguda como hipertensión pulmonar aguda. En ratas, una extensa literatura describe el fenómeno de hipertensión pulmonar e hipertrofia de ventrículo derecho como respuesta a la hipoxia de diferentes tipos (Nakanishi et al., 1996; McGuire y Bradford, 1999) pero en menor grado en hipoxia crónica intermitente (Corno et al., 2004).

Los resultados morfológicos presentados en esta Tesis, con el modelo animal en cuanto al grosor de la pared ventricular derecha, que se escogió como parámetro de hipertrofia como resultado de una hipertensión pulmonar de altura, confirman que la exposición a la hipoxia produce una hipertrofia del ventrículo derecho, pero esta respuesta en los expuestos en forma intermitente, ocurre en forma más retardada y es de menor intensidad, estableciendo de esta manera una diferencia con la condición de exposición crónica, introduciendo aquí, como otras variables importantes en el resultado final, el tiempo y tipo de exposición, al igual que otras variables previamente descritas como la edad y el nivel de altitud (Peñaloza y Arias-Stella, 2007).

Asimismo, los resultados en los sujetos expuestos por 12 años a un sistema de intermitencia, donde existe poca o ninguna evidencia sobre una remodelación de la circulación pulmonar a largo plazo en exposición a hipoxia intermitente, como ocurre en hipoxia crónica (Peñaloza et al, 1963), muestran una hipertensión pulmonar diagnosticada en un 4% del grupo, lo cual comparado con el valor teórico de la población general (0.02%) (Runo y Loyd, 2003), es muy elevado, y se acerca a lo encontrado en la condición crónica de un 5 a 10 % (León-Velarde et al., 2005) y a lo encontrado en el nuestro modelo animal, pudiendo establecerse como una aportación de esta Tesis que la exposición a hipoxia intermitente a largo plazo, en humanos, también produciría una remodelación del circuito derecho. Reafirma lo anterior, y también como una alerta, que merece ser considerada en el futuro, el haber encontrado otros signos ecocardiográficos que sugieren hipertensión pulmonar: PAPm > 20 mm.

Hg. en reposo (12 %), Insuficiencia Tricuspidea no Fisiológica (48%), Grosor de ventrículo derecho mayor 40 mm. (12%), llamando la atención que la mayoría de los sujetos con PAPm elevadas tienen menos de 20 años en altura. Aunque, estos valores fueron medidos a nivel del mar por razones de disponibilidad de equipo y que la ausencia de grupo control representa una debilidad de nuestro estudio, son sin duda igualmente indicadores de un efecto y que si fueran medidos en altura pudieran ser mas elevados o incluso encontrados en mayor proporción, de acuerdo a lo publicado por Sarybaev et al., 2003. Los rangos de PAPm encontrada, son equivalentes a aquellos descritos en alturas similares (Hultgren et al., 1965) pero menores que en mayores alturas (Peñaloza el al., 1963), aunque pueden estar involucradas algunas diferencias étnicas e individuales (Sarybaev et al., 2003). Asimismo, nuestros hallazgos, son bastante coincidentes también con la información para el seguimiento de mineros a menos de 3 años plazo, que evidencia un engrosamiento del ventrículo derecho (Richalet et al., 2002) y en sujetos con turnos en altura de 30 días, una elevación de la PAPm reversible a nivel del mar (Sarybaev et al., 2003). Además, la asociación encontrada en la regresión logística multivariante, entre la PAPm (variable dependiente) y triglicéridos (variable independiente), también puede indicar una contribución de la condición hipóxica como fuera discutido anteriormente.

Por otra parte, se ha descrito un beneficio potencial de la hipoxia intermitente en la mejoría del trabajo cardiaco que ha sido extensamente reportado (Asemu et al., 2000, Neubauer, 2001) a efectos tanto de entrenamiento físico como de mejoría post infarto agudo de miocardio (Tin'kov

y Aksenov, 2002), pero a la luz de nuestros hallazgos y otros similares (Ostadal et al., 1981; Joyeux-Faure et al., 2004), no podemos apoyar totalmente dichos aseveraciones ya que estos efectos benéficos han sido encontrados en exposiciones mucho mas breves y a menor altitud que el presente estudio, lo que hace que en cierta medida nuestros resultados no sean totalmente comparables.

Adicionalmente y como otra aportación de esta Tesis, se ha logrado determinar, mediante una ecuación de regresión lineal multivariante, que por cada cambio de turno (de menor a mayor exposición) y por cada mes de vida en exposición, el grosor del ventrículo derecho aumenta en 0.06mm, lo que implicaría un “cambio relevante” a partir de una exposición de 3 meses.

Como consecuencia, este tipo de exposición intermitente en altura a largo plazo, parece también tener un efecto remodelador o hipertensivo en la circulación pulmonar, al igual que la exposición crónica, aunque en una forma más leve y de aparición más tardía; y si esta condición fuera reversible o no, como se aprecia en la cohorte de mineros canadienses (Sarybaev et al., 2003), no puede responderse como producto de nuestras investigaciones, pero ciertamente plantea un problema sanitario digno de considerar. De igual manera, aunque los mecanismos fisiológicos se encuentran claramente determinados (Peñaloza y Arias-Stella, 2007), aun queda un largo camino en la determinación de los mecanismos moleculares o genéticos y de una respuesta a la pregunta sobre la tolerancia o susceptibilidad individual que facilitarían o permitirían la aparición de estos fenómenos. Aparentemente, aquellos

intolerantes tendrían una alteración de la función endotelial en la regulación del óxido nítrico (Radomski *et al.*, 1993; Vanhoutte., 1996) y ciertos polimorfismos (Prabhakar y Kline, 2002), que producto del modelo animal generado por esta Tesis, se encuentra en estudio en nuestro laboratorio y cuyos resultados preliminares orientan hacia una utilización de una vía metabólica alternativa en la degradación de la arginina (sustrato para el óxido nítrico), hacia otros metabolitos diferentes al óxido nítrico (López *et al.*, manuscrito en preparación).

6.5. Triglicéridos

Respecto a los triglicéridos, ha llamado la atención el encontrar elevados valores en el grupo de 12 años, tanto en los promedios como en los porcentajes de valores altos intraclases. Se conoce que se producen altos niveles de triglicéridos, en sujetos que suben a la altura a residir crónicamente, comparados con el nivel de mar (Cáceres *et al.*, 2004) y esto también se observó en ratas expuestas a hipoxia intermitente (Li *et al.*, 2006), aunque igualmente existen publicaciones contradictorias que revelan un descenso de los lípidos en general y de los triglicéridos en particular, después una exposición en cámara hipobárica (Tin'kov y Aksenov, 2002). Los elevados valores de triglicéridos plasmáticos, podrían atribuirse a factores presentes en este estudio, como edad (promedio: 42 años), dieta (2800 K/cal/día), IMC (promedio 26,2), sin embargo dado que presentan un plan diario de ejercicio y entrenamiento y estas variables no alcanzaron significación en la regresión logística multivariante, debe analizarse con otras variables relacionadas con el ambiente hipóxico. Así, se ha descrito, una influencia hormonal de los lípidos

por la hipoxia (Ferezou et al., 1988) que podría explicar el elevado nivel plasmático de triglicéridos encontrado en este estudio, y también un menor uso de los triglicéridos en la producción de energía en concentraciones bajas de oxígeno (Murray et al., 2003). Debe además agregarse, que los resultados promedios de triglicéridos encontrados son mayores que los promedios de la población general de la misma edad y género (175 mg/dl, MINSAL, 2003), pero que esto es coincidente con los valores encontrados en residentes y nativos de nivel del mar que trabajan en altura (Cáceres et al., 2004). Desde el punto de vista biológico, esta elevación pudiera ser el reflejo de una respuesta de adaptación no suficiente a la hipoxia, y a su vez, un probable indicador bioquímico de esta interacción. Esta asociación, se demuestra claramente al encontrar una correlación negativa entre triglicéridos y SaO_2 ($r -0.3$, $p < 0.05$) y es sugerida por la correlación positiva entre los elevados valores de presión de arteria pulmonar media (≥ 25 mm Hg) y elevados valores de triglicéridos.

Esta probable relación “hipoxia-nivel de trigliceridemia” constituye no solo una aportación novedosa y que requiere de estudios posteriores de confirmación y validación externa, sino también un interés sanitario por su contribución al riesgo cardiovascular.

6.6. Función renal

Se consideró importante también discutir la función renal, pues este es uno de los capítulos poco mencionados en los problemas debido a la altura y además casi sin información en hipoxia intermitente en forma crónica.

Los resultados tanto del modelo animal, como del estudio de más de 12 años, muestran interesantemente que el riñón es un órgano que merece mayor atención, aunque en el estudio de morbilidad de dos años en mineros no aparece como motivo de consulta. De esta manera, los diferentes efectos morfológicos en el riñón, como se aprecian en nuestros resultados, excepto la presencia de cilindros, han sido comunicados como el resultado de la exposición a hipoxia tanto en animales de experimentación en mayor medida (Nangaku, 2004), como en humanos en exposición crónica en menor medida (Monge y León-Velarde, 2003), tales como necrosis tubular, alteración glomerular y daño tubulointersticial; bien sea por el efecto hipóxico agudo o por atrapamiento de glóbulos rojos y plaquetas en estados policitémicos (Chien y Chen, 1994). Igualmente, en el caso de sujetos residentes en altura y con enfermedad crónica de montaña, se describen alteraciones funcionales como mayor filtración de albúmina (Hansen et al., 1996) o menores aclaramientos (Monge y León-Velarde, 2003), aunque no todos estos estudios están realizados en hipoxia hipobárica. Por lo tanto, no parece sorprendente el encontrar alteraciones renales en el modelo animal, llamando la atención las escasas publicaciones al respecto en humanos, pero es un resultado novedoso y una aportación de esta tesis el observar que el HC12X2 o “turno corto” es el sistema de exposición con menos efectos y que aquellos con mayores periodos de exposición (HC14X4 y HC) muestran las mayores proporciones de cilindros, como fenómeno de daño glomerular, que no está descrito anteriormente, como resultado de la exposición a hipoxia crónica intermitente en ratas o seres

humanos, demostrando que la menor exposición ejerce un menor efecto en este parénquima.

Refuerza lo anterior, el haber encontrado que la función renal en el grupo de sujetos expuestos a 12 años estaba levemente comprometida, donde un 48% de los sujetos mostraban creatinina plasmática sobre 1.1 mg/dl y un 26% con aclaramiento de creatinina inferior a 90 ml/min y un 8% inferior a 80 ml/min, hallazgos que estarían en coincidencia con lo comunicado en el estudio de cohorte de intermitencia a dos años (Richalet et al., 2002) y también con la disminución del volumen de filtración glomerular descrita en poblaciones expuestas a hipoxia crónica (Monge y León-Velarde, 2003), aunque no se comparó con un grupo control. Por lo descrito en la literatura, y la consistencia entre el grupo de 12 años o más y el modelo animal se hace necesario considerar la medición de la función renal como parte de la evaluación de salud en sujetos expuestos a hipoxia intermitente en forma crónica, puesto que dicha función se ha demostrado comprometida.

Finalmente, los antecedentes aportados por esta Tesis Doctoral sobre la exposición a la altura en forma intermitente por periodos prolongados, tanto en los apartados del modelo animal, como de los estudios epidemiológicos a dos años y durante más de 12 años de exposición, permiten apoyar lo señalado por (Powell y García, 2000), en el sentido, que esta condición implicaría un proceso continuo de adaptación y desadaptación en dos planos distintos, poniendo a prueba los mecanismos de adaptación crónica y aguda y después de transcurrido un periodo importante lograr una aclimatación definitiva con

mecanismos adaptativos que lo sustentan. Sin embargo, como resultado de esta Tesis, se puede señalar que este modelo de adaptación pareciera comprender algunas características que lo hacen diferente de los modelos de exposición crónica e incluso con diferencias dentro del mismo tipo de exposición intermitente y de acuerdo al tiempo de exposición. Las características de este nuevo modelo de adaptación a la hipoxia crónica intermitente a largo plazo son: fenómenos de desadaptación crónica (hipertrofia de ventrículo derecho) en forma mas tardía y de menor intensidad, fenómenos agudos al ingreso al turno el primer día pero con una rápida resolución (EAM, dificultad para dormir, cefalea) y que persisten pese a varios años de exposición, las enfermedades habituales y en especial las respiratorias presentan una notable mayor incidencia, una inexplicada elevación de los triglicéridos y alteración de la función renal, y que por último, el turno con menor exposición a la altura es el modelo con menores efectos a largo plazo. Modelo de exposición, que presenta un reto en los aspectos sanitarios abordados.

7. Conclusiones

7. Conclusiones

Como resultado de la realización de estos estudios se obtienen las siguientes conclusiones

7.1. Conclusiones respecto al objetivo 1

1. El presente estudio, supone el establecimiento de una línea basal de conocimientos sanitarios en una nueva situación epidemiológica producida por la condición de trabajo intermitente crónico en gran altura. Ha sido posible determinar la magnitud de la demanda de atención de salud, la caracterización tipológica de las consultas, el riesgo de consultar por las diversas patologías y como resultado de ello la carga de salud esperable.
2. Las causas de morbilidad no difieren del grupo control, pero las diferencias en el perfil epidemiológico y el exceso de consultas encontrados, demuestran una asociación ya sea a la hipoxia, al ambiente o la acción combinada de ambas. Sin embargo, las enfermedades agudas respiratorias son las que representan la mayor carga y demanda y, por otra parte, la gran mayoría de las causas de consulta corresponden a patologías de baja complejidad.
3. La información epidemiológica de esta Tesis permitirá orientar tanto a futuras investigaciones como a la correcta provisión de los recursos

sanitarios y medidas preventivas (Ej.: medidas de protección térmica y de radiación ultravioleta) requeridas en circunstancias similares en el presente y a futuro en trabajos sometidos a una condición de hipoxia intermitente a gran altura.

7.2. Conclusiones respecto al objetivo 2

1. Este trabajo contribuye a establecer las diferencias entre dos regímenes de exposición en hipoxia crónica intermitente en gran altitud (4600m) en un período muy prolongado de observación (12 meses) en el modelo animal, a través del análisis de los efectos morfológicos, ya que se muestra la presencia de efectos bien conocidos como de otros no tan conocidos (trombosis hepática y cilindros renales).
2. Los efectos encontrados conllevan diferencias en cuanto a la frecuencia y el tiempo de aparición de acuerdo al régimen de exposición, ya que los expuestos en forma intermitente presentan una respuesta de menor intensidad y mas retardada que el grupo crónico y además con diferencias entre si. Igualmente, se establece que el periodo más corto de intermitencia (HCl2X2) es menos deletéreo que el turno que tiene un mayor periodo de recuperación a nivel del (HCl4X4), pero probablemente tienen como costo, más efectos agudos.

3. Si bien estos resultados no pueden ser extrapolados totalmente a un ambiente clínico (se sabe que la rata es un animal particularmente sensible a la altura), puede ayudar al estudio clínico de los sujetos expuestos e incluso permitir la elección de un turno más “saludable” en hipoxia crónica intermitente. De hecho, se sugiere la elección de un “turno” con el menor periodo de exposición en la altura, que en humanos pudiera representar el “turno de 4X4”.

7.3. Conclusiones respecto al objetivo 3

1. Este es el primer estudio epidemiológico que integra varias variables, en sujetos expuestos por razones de trabajo a una altura de 3550 m (mayoría >20 años) de manera intermitente, y durante más de 12 años, mostrando que a pesar del tiempo transcurrido, un elevado porcentaje se sigue afectando de forma aguda por la hipoxia el primer día (sin lograr una total aclimatación), pero que por otra parte, se compensa rápidamente al segundo día (lo que constituye un nuevo modelo de adaptación).
2. Algunos parámetros como los hematológicos adquieren una posición intermedia entre los debidos a una exposición crónica a la altura y los valores de nivel del mar, resultando relevante la alteración de la función renal, la elevación de los triglicéridos y la presencia de eventuales signos de hipertensión pulmonar de altura.

3. Aunque, estos resultados pueden ser considerados como preliminares, por la ausencia de un grupo control, ellos contribuyen con información relevante y complementaria al estudio de esta modalidad laboral y a la construcción de la historia natural de esta condición. Asimismo, apoyan el introducir dentro del examen laboral, la evaluación ecocardiográfica y de función renal, al transcurrir un periodo razonable de exposición, que en base a las nuestras investigaciones realizadas se podría estimar en 3 años.

8. Bibliografia

8. Bibliografía

1. Anand AC., Saha A., Jha SK., Kumar R., Sharma V. and Adya CM. Portal system thrombosis: a complication of long-term residence at extreme altitude. *Indian J. Gastroenterol.* 2001; 20: 219-22.
2. Anonymous. The Lake Louise Consensus on the definition and quantification of Altitude Illness. In: Hypoxia and mountain medicine. J. Sutton, G. Coates and C. Houston, eds. Queen City Press, Burlington, VT; USA. 1992; pp. 327-330.
3. Asemu G., Neckar J., Szarszoi O., Papousek F., Ostadal B. and Kolar F. Effects of adaptation to intermittent high altitude hypoxia on ischemic ventricular arrhythmias in rats. *Physiol Res.* 2000; 49: 597-606.
4. Bartsch P., Bailey DM., Berger MM., Knauth M., Baumgartner RW. Acute mountain sickness: controversies and advances. *High Alt Med Biol.* 2004; 5:110-24.
5. Basnyat B., Cumbo TA., Edelman R. Acute medical problems in the Himalayas outside the setting of altitude sickness. *High Alt Med Biol.* 2000; 1 (3):167-74.
6. Beidleman BA., Muza SR., Fulco CS., Cymerman A., Ditzler D., Stulz D., Staab JE., Skrinar GS., Lewis SF., and Sawka MN. Intermittent altitude exposures reduce acute mountain sickness at 4300 m. *Clin Sci (Lond).* 2004; 106:321-8.
7. Brundrett G. Sickness at high altitude: a literature review. *J R Soc Health.* 2002; 122 (1):14-20.

8. Caceres J., Rojas M., Caceres L., and Ortiz J. Colesterol total y sus fracciones en adultos de 30 a 39 años, según género y sub-grupos de edad: Cusco. [in Spanish]. *Situa*. 2004; 13:12- 19.
9. Calbet J.A. Chronic hypoxia increases blood pressure and noradrenaline spillover in healthy humans. *J Physiol*. 2003; 15:379-86.
10. Cantuarias J., Cornejo E. Work absenteeism in a mining company: trends in 1985-1988. *Rev Med Chil*. 1993; 121(7):827-36.
11. Chien CT. and Chen CF. Ischemic renal failure in chronic hypoxic rats. *Ren Fail*. 1994; 16:255-61.
12. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*. 1976; 16:31-41
13. Colice GL, Lee YJ, Chen J, Du HK, Ramirez G, Dietz J, Ou LC. Susceptibility to high-altitude pulmonary edema in Madison and Hilltop rats. I. Ventilation and fluid balance. *J Appl Physiol*. 1995; 78:2279-85.
14. Corno AF., Milano G., Morel S., Tozzi P., Genton CY., Samaja M. and Von Segesser LK. Hipoxia: unique myocardial morphology?. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2004; 127: 1301-8.
15. Cotran RS., Kumar V. and Collins T. Robbins Pathologic Basis of Disease: 6th edition, Ed. WB Saunders Company, Phil., 1999; Penn, USA.
16. Deng D., Hang Y., Chen H., Li H. Prevalence of photodermatosis in four regions at different altitudes in Yunnan province, China. *J Dermatol*. 2006; 33: 537-40.
17. Dunleavy M., Dooley M., Cox D. and Bradford A. Chronic intermittent asphyxia increases platelet reactivity in rats. *Exp Physiol*. 2005; 90:411-6.

18. Ferezou J., Richalet JP., Coste T., and Rathat C. Changes in plasma lipids and lipoprotein cholesterol during a high altitude mountaineering expedition (4800 m). *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1988; 57:740-5.
19. Gaillard S., Dellasanta P., Loutan L., Kayser B. Awareness, prevalence, medication use, and risk factors of acute mountain sickness in tourists trekking around the Annapurnas in Nepal: a 12-year follow-up. *High Alt Med Biol*. 2004; 5: 410-9.
20. Genovese A., Chiariello M., Latte S., DeAlfieri W. and Condorelli M. Bilateral ventricular hypertrophy in rats exposed to acute or chronic hypobaric hypoxia. *Respiration*. 1983; 44: 289-3.
21. Germack R., Leon-Velarde F., Valdes De La Barra R., Farias J., Soto G. and Richalet JP. Effect of intermittent hypoxia on cardiovascular function, adrenoceptors and muscarinic receptors in Wistar rats. *Exp Physiol*. 2002; 87: 453-60.
22. Gerth W.C., Carides G.W., Dasbach E.J., Visser W.H., Santanello N.C. The multinational impact of migraine symptoms on healthcare utilisation and work loss. *Pharmacoeconomics*. 2001; 19:197-206.
23. Grover R.F. Chronic hypoxic pulmonary hypertension. In: the pulmonary circulation: Normal and abnormal. A.P. Fishman, eds. University of Pennsylvania Press, Philadelphia, USA. 1990; pp 282-299.
24. Hackett P.H., and Rennie D. The incidence, importance, and prophylaxis of acute mountain sickness. *Lancet*; 1976; 2:1149-55.
25. Hackett P.H. Acute mountain sickness and high altitude cerebral edema: a review for the practitioner. In: *Health and Height. Proceedings of the 5th*

- World Congress on Mountain Medicine and High Altitude Physiology*. G Viscor and A Ricart, eds. 2003; Universitat de Barcelona, Spain; pp. 9–22.
26. Hanna J.M. Climate, altitude, and blood pressure. *Hum Biol.* 1999; 71: 553-82.
 27. Hansen JM., Kanstrup IL., Richalet JP. and Olsen NV. High altitude-induced albuminuria in normal man is enhanced by infusion of low-dose dopamine. *Scand J Clin Lab Invest.* 1996; 56:367-72.
 28. Heinicke K., Prommer N., Cajigal J., Viola T., Behn C., and Schmidt W. Long-term exposure to intermittent hypoxia results in increased hemoglobin mass, reduced plasma volume, and elevated erythropoietin plasma levels in man. *Eur J Appl Physiol.* 2003; 88:535-43.
 29. Hochedez P., Vinsentini P., Ansart S., Caumes E. Changes in the pattern of health disorders diagnosed among two cohorts of French travelers to Nepal, 17 years apart. *J Travel Med.* 2004; 11: 341-6.
 30. Hultgren HN., Kelly J., and Miller H. Pulmonary circulation in acclimatized man at high altitude. *J Appl Physiol.* 1965; 20:233-238.
 31. Joyeux-Faure M., Stanke-Labesque F., Lefebvre B., Beguin P., Godin-Ribuot D., Ribuoat C., Launois SH., Bessard G. and Levy P. Chronic intermittent hypoxia increases infarction in the isolated rat heart. *J Appl Physiol.* 2004; 98:1691-6.
 32. Karakucuk S., Mirza G.E. Ophthalmological effects of high altitude. *Ophthalmic Res.* 2000; 32: 30-40.
 33. Khalid M.E., Ali M.E., Ahmed E.K., Elkarib A.O. Pattern of blood pressures among high and low altitude residents of southern Saudi Arabia. *J Hum Hypertens.* 1994; 8: 765-9.

34. Kitabatake A, Inoue M, Asao M, Masuyama T, Tanouchi J, Morita T, Mishima M, Uematsu M, Shimazu T, Hori M, Abe H. Noninvasive evaluation of pulmonary hypertension by a pulsed Doppler technique. *Circulation*. 1983; 68:302-9.
35. Klocke D.L., Decker W.W., Stepanek J. Altitude-related illnesses. *Mayo Clin Proc*. 1998; 73: 988-92.
36. Leon-Velarde F., and Arregui A. Desadaptacion a la vida en las grandes alturas (In Spanish), Travaux del *Institut Francais d'Etudes Andines (IFEA)*. Editores, IFEA/ Universidad Peruana Cayetano Heredia. 1994; Lima, Perú.
37. León-Velarde F., Maggiorini M., Reeves JT., Aldashev A., Asmus I., Bernardi L., Ge RL., Hackett P., Kobayashi T., Moore LG., Penaloza D., Richalet JP., Roach R., Wu T., Vargas E., Zubieta-Castillo G. and Zubieta-Calleja G. Consensus statement on chronic and subacute high altitude diseases. *High Alt Med Biol*. 2005; 6:147-57.
38. Leon-Velarde F., Richalet J.P. Respiratory control in residents at high altitude: physiology and pathophysiology. *High Alt Med Biol*. 2006; 7:125-37.
39. Li J., Bosch-Marce M., Nanayakkara A., Savransky V., Fried SK., Semenza GL., and Polotsky VY. Altered metabolic responses to intermittent hypoxia in mice with partial deficiency of hypoxia-inducible factor-1alpha. *Physiol Genomics*. 2006; 25:450-7.
40. Maggiorini M. Cardio-pulmonary interactions at high altitude. Pulmonary hypertension as a common denominator. *Adv Exp Med Biol*. 2003; 543:177-89.

41. Marticorena E., Ruiz L., Severino J., Galvez J., and Penaloza D. Systemic blood pressure in white men born at sea level: changes after long residence at high altitudes. *Am J Cardiol.* 1969; 3:364-8.
42. McGoon M., Gutterman D., Steen V., Barst R., McCrory DC., Fortin TA., and Loyd JE. Screening, early detection, and diagnosis of pulmonary arterial hypertension: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest.* 2004; 126:14-34.
43. McGuire M. and Bradford A. Chronic intermittent hypoxia increases haematocrit and causes right ventricular hypertrophy in the rat. *Respir Physiol.* 1999; 117: 53-8.
44. McLaughlin VV. Classification and epidemiology of pulmonary hypertension. *Cardiol Clin.* 2004; 22:327-41.
45. Ministerio de Salud de Chile (MINSAL). Encuesta Calidad de Vida [Health National Survey. [in Spanish]. MINSAL2003; Eds., Santiago, Chile.
46. Mirrakhimov M.M., Rafibekova Z.h.S., Dzhumagulova A.S., Meimanaliev T.S., Murataliev T.M., Shatemirova K.K. Prevalence and clinical peculiarities of essential hypertension in a population living at high altitude. *Cor Vasa.* 1985; 27: 23-8.
47. Mirza S., Richardson H. Otic barotrauma from air travel. *J Laryngol Otol.* 2005; 119: 366-70.
48. Monge C. and Leon Velarde F. El reto fisiológico de vivir en los Andes [in Spanish]. Universidad Peruana Cayetano Heredia Press. 2003; Lima, Perú.
49. Moore LG., Asmus I. y Curran L. Chronic mountain sickness: gender and geographic variation. In: Ohno H, Kobayashi T, Masuyama S, Nakashima

- M, eds. *Progress in Mountain Medicine and High Altitude Physiology*. Matsumoto, Japan; 1998:114–119.
50. Mukhopadhyay S., Thakur L., Anand J.P., Selvamurthy W. Effect of sojourn at altitude of 3,500 m on auditory evoked potential in man. *Indian J Physiol Pharmacol*. 2000; 44: 211-4.
 51. Murdoch D.R. Symptoms of infection and altitude illness among hikers in the Mount Everest region of Nepal. *Aviat Space Environ Med*. 1995; 66:148-51.
 52. Murray RK.; Granner DK.; Mayes PA., and Rodwell VW. Oxidation of Fatty Acids: Ketogenesis. In: Harper's Illustrated Biochemistry (26th Edition). Murray RK.; Granner DK.; Mayes P A., and Rodwell VW., eds. McGraw-Hill, 2003; NY, USA; pp. 180 -190.
 53. Nakanishi K., Tajima F., Osada H., Nakamura A., Yagura S., Kawai T., Suzuki M. and Torikata C. Pulmonary, vascular responses in rats exposed to chronic hypobaric hypoxia at two different altitude levels. *Pathol Res Pract*. 1996; 192:1057-67.
 54. Nangaku M. Hypoxia and tubulointerstitial injury: a final common pathway to end- stage renal failure. *Nephron Exp Nephrol*. 2004; 98:8-12.
 55. Neubauer J.A. Invited review: Physiological and pathophysiological responses to intermittent hypoxia. *J Appl Physiol*. 2001; 90:1593-9.
 56. Ohkuwa T., Itoh H., Yamamoto T., Minami C. and Yamazaki Y. Effect of hypoxia on norepinephrine of various tissues in rats. *Wilderness Environ Med*. 2005; 16:22-6.

57. Ostadal B., Urbanova D., Ressler J., Prochazka J., Pelouch V. and Widimsky J. Changes of the right and left ventricles in rats exposed to intermittent high altitude hypoxia. *Cor Vasa*. 1981; 23:111-20.
58. Peñaloza D., Sime F., Banchemo N., Gamboa R., Cruz J., and Marticorena E. Pulmonary hypertension in healthy men born and living at high altitudes. *Am J Cardiol*. 1963; 11:150–157.
59. Penaloza D. and Arias-Stella J. The heart and pulmonary circulation at high altitudes: healthy highlanders and chronic mountain sickness. *Circulation*. 2007; 115:1132-46.
60. Powell FL. and Garcia N. Physiological effects of intermittent hypoxia. *High Alt Med Biol*. 2000; 1:125-36.
61. Prabhakar NR and Kline DD. Ventilatory changes during intermittent hypoxia: importance of pattern and duration. *High Alt Med Biol*. 2002; 3:195-204.
62. Pradalier A., Auray J.P., El Hasnaoui A., Alzahouri K., Dartigues J.F., Duru G., Henry P., Lanteri-Minet M., Lucas C., Chazot G., Gaudin A.F. Economic impact of migraine and other episodic headaches in France: data from the GRIM2000 study. *Pharmacoeconomics*. 2004; 22: 985-99.
63. Radomski MW. and Moncada S. The biological and pharmacological role of nitric oxide in platelet function. *Adv Exp Med Biol*. 1993; 344: 251-64.
64. Richalet J.P., Donoso M.V., Jimenez D., Antezana A.M., Hudson C., Cortes G., Osorio J., Leon A. Chilean miners commuting from sea level to 4500 m: a prospective study. *High Alt Med Biol*. 2002; 3:159-66.

65. Roach R.C., Greene E.R., Schoene R.B., Hackett P.H. Arterial oxygen saturation for prediction of acute mountain sickness. *Aviat Space Environ Med.* 1998; 69:1182-5.
66. Runo JR. and Loyd JE. Primary pulmonary hypertension. *Lancet.* 2003; 361:1533-44.
67. Sadnicka A., Walker R., Dallimore J. Morbidity and determinants of health on youth expeditions. *Wilderness Environ Med.* 2004; 15:181-7.
68. Sarybaev A.S., Palasiewicz G., Usupbaeva D.A., Plywaczewski R., Maripov A.M., Sydykov A.S., Mirrakhimov M.M., Le Roux H., Kadyrov T., and Zielinski J. Effects of intermittent exposure to high altitude on pulmonary hemodynamics: a prospective study. *High Alt Med Biol.* 2003; 4:455-63.
69. Siqués P. and Brito J. Trabajo a Gran Altura Intermitente. Nueva situación Epidemiológica. [in Spanish]. Universidad Arturo Prat. 2001; Iquique, Chile.
70. Siques P., Brito J., Leon-Velarde F., Barrios L., Cruz JJ., Lopez V., and Herruzo R. Time course of cardiovascular and hematological responses in rats exposed to chronic intermittent hypobaric hypoxia (4600 m). *High Alt Med Biol.* 2006; 7:72-80.
71. Schmidt W. Effects of intermittent exposure to high altitude on blood volume and erythropoietic activity. *High Alt Med Biol.* 2002; 3:167-76.
72. Sulkowska M. Morphological studies of the lungs in chronic hypobaric hypoxia. *Pol J Pathol.* 1997; 48: 225-34.

73. Tanne F., Gagnadoux F., Chazouilleres O., Fleury B., Wendum D., Lasnier E., Lebeau B., Poupon R. and Serfaty L. Chronic liver injury during obstructive sleep apnea. *Hepatology*. 2005 ; 41:1290-6.
74. Temte J.L. Elevation of serum cholesterol at high altitude and its relationship to hematocrit. *Wilderness Environ Med*. 1996; 7:216-24.
75. Thake C.D., Mian T., Garnham A.W., and Mian R. Leukocyte counts and neutrophil activity during 4 h of hypocapnic hypoxia equivalent to 4000 m. *Aviat Space Environ Med*. 2004; 75:811-7.
76. Tin'kov AN. and Aksenov VA. Effects of intermittent hypobaric hypoxia on blood lipid concentrations in male coronary heart disease patients. *High Alt Med Biol*. 2002; 3:277-82.
77. Tokyol C., Karaorman G. and Bastug M. Effects of acute and adaptive hypoxia on heat shock protein expression in hepatic tissue. *High Alt Med Biol*. 2005; 6:247-55.
78. Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction in hypertension. *J Hypertens*. 1996; 14: 83-93.
79. Vasquez R. and Villena M. Normal hematological values for healthy persons living at 4000 meters in Bolivia. *High Alt Med Biol*. 2001; 2:361-7.
80. Vyas-Somani AC., Aziz SM., Arcot SA., Gillespie MN., Olson JW. and Lipke DW. Temporal alterations in basement membrane components in the pulmonary vasculature of the chronically hypoxic rat: impact of hypoxia and recovery. *Am J Med Sci*. 1996; 312:54-67.
81. Weil JV. Sleep at high altitude. *High Alt Med Biol*. 2004; 5:180-9.
82. West JB. Intermittent exposure to high altitude. *High Alt Med Biol*. 2002; 3:141-3.

83. Wilson PW., D'Agostino RB., Levy D., Belanger AM., Silbershatz H., and Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation*. 1998; 97:1837-47.
84. Wood S., Norboo T., Lilly M., Yoneda K., and Eldridge M. Cardiopulmonary function in high altitude resident of Ladakh. *High Alt Med Biol*. 2003; 4: 445-54.

9. Resumen

9. Resumen

El resumen se ha estructurado en los diferentes apartados del trabajo que corresponden a cada uno de sus objetivos.

9.1. Resumen del Objetivo 1

Trabajo Intermitente a gran altura: Una nueva situación epidemiológica.

Objetivo: Obtener una visión epidemiológica de la incidencia de consultas, riesgo de enfermar y carga de salud esperable en una condición de trabajo en exposición a hipoxia intermitente en forma crónica a dos años en mineros, que pudiera ser útil para aspectos de salud pública, salud laboral y decisiones de costos e inversión.

Material y Métodos: Se utilizaron los registros médicos de las consultas espontáneas de mineros en faenas de altura en un policlínico de faena en altura (4600 m) (GHCI) y un grupo control de funcionarios públicos (GC) en un policlínico a nivel del mar (91.500 consultas totales). Se excluyeron exámenes de salud y aquellas repetidas dentro del periodo biológico del episodio mórbido, quedando para análisis final un total de 54.613 consultas de morbilidad (50.557 en altura y 4.056 a nivel del mar). Las enfermedades se codificaron de acuerdo al CIE-10. Para el análisis se utilizó el programa SPSS, 12.0 y se obtuvieron distribuciones: por consulta total, morbilidad, según grandes grupos y por morbilidad específica. Se confeccionaron tasas de incidencia de consultas. Se

realizaron comparaciones entre los dos grupos mediante Anova de un factor y análisis bi y multivariante mediante regresión logística. El nivel de significación fue establecido en $p < 0.05$.

Resultados: Se aprecia una notable mayor consulta por morbilidad del grupo GHCI, por individuo (tasa de 6 consultas año por individuo y de 1.8 en el GC, OR 3,3). Todos los grandes grupos de morbilidad tienen una mayor incidencia de consultas por individuo ($p < 0.05$) en el grupo GHCI, y la primera causa de consulta son las enfermedades respiratorias que en el grupo intermitente corresponde a más de la mitad de las consultas (51.4%) con una tasa de incidencia de 248.1 x 1.000. En segundo lugar aparecen las enfermedades digestivas y en tercer lugar los traumatismos (64.2 y 32.3 x 1.000 respectivamente). Las enfermedades circulatorias ocupan el 9º lugar de motivo de consulta (85% en el grupo GHCI corresponde a HTA) con un riesgo de consultar de 3.1 ($p < 0.001$). La cefalea, es el 7º lugar de causa específica en el GHCI, con un riesgo de 9.5 veces mayor ($p < 0.001$), permaneciendo constante en el tiempo. La EAM presenta una tasa e 19.3 x 1.000.

Conclusiones: Esta publicación es un aporte original al conocimiento y al establecimiento de una línea basal de una nueva situación epidemiológica producida por la condición de trabajo intermitente crónico en gran altura. Producto de este estudio, ha sido posible determinar la magnitud de la demanda de atención de salud, la caracterización tipológica de las consultas, el riesgo de consultar por las diversas patologías y como resultado de ello la carga de salud esperable. Asimismo, aunque las causas de morbilidad no

difieren del GC, las diferencias en el perfil epidemiológico y el exceso de consulta encontrados, demuestran una asociación ya sea a la hipoxia, al ambiente o la acción combinada de ambas. Por otra parte, la gran mayoría de las causas de consulta corresponden a patologías de baja complejidad. Además, se entrega información que permitirá orientar tanto a futuras investigaciones como a la correcta provisión de los recursos sanitarios y medidas preventivas requeridas en circunstancias similares en el presente y a futuro.

9.2. Resumen del Objetivo 2

Diferentes regimenes de exposición a hipoxia intermitente crónica en el largo plazo ejercen diferentes resultados y efectos morfológicos en ratas Wistar a 4600m.

Objetivo: Comparar los efectos morfológicos en dos regimenes de exposición a hipoxia hipobárica intermitente (428 torr) a gran altura, en ratas Wistar por un periodo de 12 meses.

Materiales y Métodos: Se utilizó una cámara Hipobárica y los grupos fueron: NX (normoxia) n= 30, HCl2X2 (2 días hipoxia, 2 días normoxia) n= 50, HCl4X4 (4 días hipoxia, 4 normoxia) n= 50, HC (hipoxia crónica) n= 28.

Variables principales: Grosor de pared ventricular, presencia de congestión, edema, hemorragia, trombosis, necrosis en cada órgano (corazón, pulmón, hígado y riñón) y cilindros renales.

Análisis de datos: Prueba de Chi-cuadrado de Pearson con corrección de Yates o probabilidad exacta de Fisher, p de tendencias. Para los eventos morfológicos aparecidos en el tiempo se utilizó el análisis de supervivencia con Kaplan-Meier, y para la influencia en la muerte y el tiempo la regresión de Cox. Para el grosor de ventrículo, estratificado en 3 periodos (3-6, 3-9 y 9 a 12 meses) un análisis de varianza (ANOVA) para diferencias entre grupos ajustadas por peso con MANOVA, y para el coeficiente de variación un análisis bi y multivariable con regresión lineal.

Resultados: En general la mortalidad fue asociada con congestión de corazón (RR: 2.1, $p < 0.001$), edema pulmonar (RR: 1.7, $p < 0.001$), hemorragia de pulmón (RR: 3.4, $p < 0.001$) y necrosis de hígado (RR: 2.1, $p = 0.02$). La exposición intermitente tanto como la crónica muestran patrones similares de efectos hipóxicos en todos los órganos, con una diferente proporción y tiempo de ocurrencia de los eventos respecto al control. La Hipertrofia del ventrículo derecho se observa en los HCl4X4 y HCl2X2 (0.94 ± 0.06 ; 0.97 ± 0.06 mm), pero con valores menores que HC (1.20 ± 0.08 mm.). También el coeficiente del grosor de la pared fue determinado por el tiempo y cambio de turno (0.06 mm; $r = 0.24$; $p < 0.001$). Se observaron también cilindros renales y trombosis como signos de daño hipóxico y cronicidad.

Conclusiones: Al igual que en la hipoxia crónica, se presentan efectos morfológicos similares en la hipoxia intermitente crónica. Sin embargo estos cambios morfológicos ocupan una posición intermedia y tienden a ocurrir más tardíamente. Además, el turno más corto parecería ser más ventajoso, como se

deduce de los resultados de este estudio y se aprecia una fuerte relación con la dosis de la exposición.

9.3. Resumen del Objetivo 3

Exposición a Hipoxia Intermitente Crónica en Gran Altura durante más de 12 años: Evaluación de los Efectos Hematológicos y Cardiovasculares.

Objetivo: Determinar el estado de salud de sujetos que están expuestos a hipoxia hipobárica intermitente en forma crónica en un sistema de turnos entre altura (3550 m) y nivel de mar por un periodo superior a 12 años.

Materiales y Métodos: En un diseño transversal, se estudiaron, 50 sujetos del Ejército de Chile (edad 48.7 ± 2.0 años), que trabajan en la localidad de Putre a 3550 m por cuatro días y descansan a nivel de mar en Arica, Chile. Se midieron en altura (día 1°, 2° y 4°) y a nivel de mar (día 1°, 2° y 3°): presión arterial, frecuencia cardíaca, SaO₂ y sintomatología de altura (puntuación de EAM y estado de sueño). El día 1° de nivel de mar se obtuvieron los parámetros hematológicos, de perfil lipídico, función renal y Ecocardiografía. Análisis de datos: Promedios, DE e IC, para diferencias entre periodos, se utilizó ANOVA de medidas repetidas; prueba de Chi-cuadrado de McNemar para diferencias entre proporciones, correlaciones de Pearson y un análisis bi y multi variante con regresión logística.

Resultados: Los resultados muestran signos de exposición aguda a la hipoxia (taquicardia, presión arterial elevada y baja SaO₂), presencia de EAM y dificultades para dormir el día 1°, que rápidamente disminuyen a partir del día 2°. Además, los hallazgos ecocardiográficos muestran hipertensión pulmonar (PAPm >25, Ventrículo derecho y aurícula alargados) en 2 sujetos (4%), una PAPm >20 en 14% y un grosor de ventrículo derecho \geq 40 mm en un 12%. El hematocrito (45 ± 2.7) y la hemoglobina (15 ± 1.0) están elevados pero en menor valor que para los residentes crónicos. Se encuentra una proporción importante de sujetos con niveles de triglicéridos elevados (238 ± 162), una disminución de la filtración glomerular (34% bajo 90ml/min y un 8% bajo 80 ml/min de aclaramiento de creatinina).

Conclusiones: Estos resultados considerados preliminares en hipoxia crónica intermitente, muestra que pese al largo periodo de tiempo que llevan estos sujetos expuestos, la mayoría de ellos aun presentan síntomas de altura en forma aguda pero que se recuperan rápidamente. Los hallazgos en los triglicéridos, en la circulación pulmonar y en la función renal son materia de interés epidemiológico

10. Índice de Índice de Tablas y Figuras

10. Índice de Tablas y Figuras

Tablas	Página
Tabla 1.- Comparación de promedios de tasas de incidencias de consultas x 1.000 individuos en enfermedades respiratorias según subgrupos de morbilidad. Odds Ratio (OR) y <i>p</i> -valor. Entre expuestos a hipoxia intermitente crónica (GHCI) y grupo control (GC).	21
Tabla 2: Comparación de promedios de tasas de incidencia de consultas x 1000 individuos, para enfermedades del ojo, piel y oído, Grupo expuesto a hipoxia intermitente (GHCI), Grupo control (GC), Odds ratio (OR) y <i>p</i> -valor	22
Tabla 3.- Comparación de promedios de tasas de incidencia de consultas x 1.000 individuos, de hipertensión arterial (HTA), cefalea y enfermedad aguda de montaña (EAM), Grupo expuesto a hipoxia crónica intermitente (GHCI), grupo control (GC), Odds ratio (OR) and <i>p</i> -valor; * no hay datos.	23
Tabla 4.- Características generales del protocolo de acuerdo al tipo de régimen; N: ratas en estudio, número y proporciones (%) de ratas fallecidas, peso a la muerte (grs), días de vida; Los valores corresponden a Medias \pm DS (\bar{X}); * corresponde a controles sacrificados.	40
Tabla 5.- Distribución de los Hallazgos morfológicos (eventos) de acuerdo al régimen de exposición durante los 12 meses estudiados para Corazón, Pulmón, Hígado y Riñón. Los valores corresponden a proporciones (%), <i>p</i> -valor y <i>p</i> -de tendencia.	41

- Tabla 6.-** Características generales del grupo estudiado: Edad (años). Índice de masa corporal (IMC, Kg./m²), años de altura y condición de fumador (Si/No). Los valores son promedios \pm DS; proporciones (%). **65**
- Tabla 7.-** Presión arterial sistólica (PAS), presión arterial diastólica (PAD), frecuencia cardiaca (FC) y saturación de oxígeno de la hemoglobina (SaO₂), en nivel de mar (nm) y al día (D) 1° y 4° en altura. Los valores son promedios \pm error estándar (ES) y p-valor (*p*). **67**
- Tabla 8.-** Principales hallazgos ecocardiográficos: Presión media de arteria pulmonar, (mm Hg; PAPm); presencia de insuficiencia tricúspide no fisiológica (ITNF), grosor de ventrículo derecho, mm (GVD), y presencia de hipertensión pulmonar (HP), Total de sujetos N=50. Los valores son número de sujetos con el atributo (n) y proporciones (%). **68**
- Tabla 9.-**Medidas hematológicas y bioquímicas: Hematocrito (Hct), concentración de hemoglobina (Hb), leucocitos totales, colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, triglicéridos, razón de colesterol total/colesterol-HDL creatinina plasmática, aclaramiento de creatinina, puntuación de ecuación Framingham por categorías; Los valores son promedios \pm DE. **70**
- Tabla 10:** Variables en el modelo final de regresión logística. Variable dependiente: (A) presión de arteria pulmonar (PAP) (cat $><25$ mmHg); (B) triglicéridos (cat $><150$ mg/dl); coeficiente de regresión (*B*); Error típico de beta (ET), OR , IC para OR al 95% y p-valor **71**

Figuras	Pagina
Fig. 1.- Tasa de incidencia mensual de consulta de morbilidad general por individuo.	19
Fig. 2.- Comparación de promedios de tasas de incidencias x 1.000 individuos, según grandes grupos de morbilidad	20
Fig. 3.- Comparación de tasas de incidencias de consultas mensual x 1.000 individuos, según enfermedades del sistema respiratorio	21
Fig. 4.- Tasa de incidencia mensual x 1000 individuos, de consultas por enfermedad aguda de montaña (EAM)	24
Fig. 5: Curva acumulada de hallazgos morfológicos (evento) de acuerdo al régimen de exposición: (A) congestión cardiaca y (B) edema pulmonar, mediante análisis de supervivencia de Kaplan–Meir.	43
Fig. 6: Medias de grosor ventricular de acuerdo al régimen de exposición y periodo en: (A) Ventrículo izquierdo y (B) Ventrículo derecho en milímetros (mm). Los valores corresponden a promedios \pm intervalos de confianza. ($p < 0.05$, * p es significativo con NX, ** p es significativo para hipoxia intermitente crónica (CIH) respecto a hipoxia crónica (CH) y † no hay datos)	45
Fig. 7.- Curva acumulada de hallazgos morfológicos (evento) de acuerdo al régimen de exposición: (A) Trombosis hígado y (B) Cilindros renales, mediante análisis de supervivencia de Kaplan–Meir.	48

Fig. 8.- Comparación de proporciones (%) de cefalea y dificultad para dormir en altura y a nivel de mar (NM) en día 1°, 2° y último día (día 4° en altura y día 3° a NM). **69**

11. Apéndice: Publicaciones realizadas a partir de los resultados.

Copia de carta de aceptación, Publicación N° : 1

-----Original Message-----

From: JULIO VASQUEZ CASTRO [<mailto:jvasquez@ucn.cl>]

Sent: Miércoles, 28 de Marzo de 2007 06:36 p.m.

To: Dra Fabiola Leon Velarde

Subject: Re: manuscrito

Estimada Dra Leon-Velarde:

Su trabajo enviado a la revista : **International Journal of Environment and Health (IJEvh)**, ISSN (Online): 1743-4963 - ISSN (Print): 1743-4955, ha sido aceptado para publicación .

Estamos esperando los trabajos que faltan, entre ellos los de maria y Luis y en el formato de la revista y la edicion, para enviar las pruebas de imprenta.

Titulo: **High Altitude Intermittent Work: A new epidemiological situation:**

Authors: Patricia Siqués, Julio Brito, Fabiola León-Velarde

Saludos

Prof. JULIO VASQUEZ, Editor

<http://www.inderscience.com/browse/index.php?journalCODE=ijenvh>

High Altitude Intermittent Work: A New Epidemiological Situation.

Patricia Siqués¹, Julio Brito¹, Fabiola León-Velarde².

1 Instituto de Estudios de Salud, Universidad Arturo Prat, Centro de Investigaciones del Hombre en el Desierto, Chile, 2 Departamento de Ciencias Biológicas y Fisiológicas. Facultad de Ciencias y Filosofía/IIA, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Perú.

Category: Original [Research and Review](#)

Correspondence to: Fabiola León-Velarde, Departamento de Ciencias Biológicas y Fisiológicas, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Av. Honorario Delgado 430, Urb. Ingeniería, S.M.P. Lima 31, Perú, Phone:51-1-3190019, Fax: 51-1-3190019. E mail: vrinve@upch.edu.pe

ABSTRACT

A review of epidemiological features found in a new labour condition: working intermittently at high altitude, is presented. A retrospective study was designed in mine workers, settled at 4600 m. undergoing chronically intermittent exposure compared to a similar group at sea level during 2 years. 91500 consultations were analyzed and classified according to ICD-10. Results show: 6 consultations/individual/year and an over consultation of 3.3. Mostly of morbidity groups had an excess of consultation and higher incidence ($p<0.001$) at altitude. Respiratory (upper respiratory tract) accounted for main burden (54%), and acute and inflammatory diseases were predominant. Also AMS remains steady over time and is noticeable the over consultation for high blood pressure.

Therefore, this condition poses an important burden to health, different to sea level and mostly associated with the exposure. As a result, an epidemiological base line is established for further research as well as for managing decisions in health and economical issues related to mining at high altitude.

KEY WORDS: Altitude, Hypoxia, Intermittent hypoxia, Acclimatization, Epidemiology, Health services.

INTRODUCTION

Chronic intermittent hypoxia (CIH) exposure at high altitude for long periods is a relatively recent biological, epidemiological, and occupational condition. It differs from acute exposure (alpinism) or chronic condition (for people living at altitude), and also from other kinds of intermittent exposure such as sleep apnea or training purposes (Richalet et al, 2002; Neubauer, 2001).

This occupational condition implies a commuting system with a certain number of fixed working days at high altitude, followed by a certain number of resting days at sea level, over several years. The frequency of these shifts can vary from 4 to 40 days. This occupational condition accounts for a wide range of activities, from mining to astronomical observatories and frontier works. In Chile, most of the working population is involved with mineral extraction, with 7-day average shifts.

Most of the studies on altitude effects in people are focused in very specialized areas and they approach physiologic, biochemical, molecular and genetic issues, and are centered in biological behavior and response to altitude condition. Altitude illnesses present a wide spectrum, from traditional morbidity (Acute Mountain Sickness (AMS), High Altitude Pulmonary Edema (HAPE), Chronic Mountain Sickness (CMS), etc.) to less mentioned aspects such as ocular injuries and thrombo-embolism, as Basnyat et al. 2000 points out.

However, there are few epidemiologic studies demonstrating differences in health burden, general or specific morbidity incidence in populations working at high altitudes compared to sea level ones. Studies on this new condition of chronically intermittent exposure and its occupational aspects are -to the extent of our knowledge- nonexistent, since those involving epidemiological issues are focused mostly in specific illnesses.

In chronically exposed population, one of the most important studies -due to the population quantity and wide spectrum of variables studied- was performed at Cerro de Pasco, featuring mine workers' and non-mine workers' health profile. Such profile states: a poor perception of health condition, presence of CMS, i.e., polycythemia in pathological levels increasing with age, effects on lung function and low Hb saturations. High morbidity and mortality due to respiratory diseases and a high mortality caused by cerebral vascular accidents (León-Velarde and Arregui, 1994).

In intermittent mine working conditions, the most important study is a cohort followed for two and a half years. It analyzes in a comprehensive way, cardiovascular and hormonal aspects, altitude symptomatology and sleep quality (Richalet et al, 2002), determining a physiologic base to the responses in this condition. The epidemiological aspects of this condition have been described in a study by Siqués and Brito (2001), which was the source of data for this work.

To achieve an epidemiological overview of the incidence, and to evaluate the risk of disease and the health burden expected in this condition; the spontaneous consultations registries in a population of mine workers working at 4.600 m. for two years, during mine settlement and production activity were compared to a similar group at sea level. These information would be useful for public health, labor health, cost studies and investment decisions.

MATERIALS AND METHODS

Our data source were medical records of spontaneous consultation from on-field clinic at an altitude of 4.600 m. and at sea level for the control group (91.500 records). Data was depurated to leave out health examination consultations and those repeated within the biological period of the morbid episode; remaining 54.613 consultations for analysis (50.557 in altitude and 4.056 at sea level), during a two-year period (1997-1998). Consultations belong to an annual average population of 7.018 people in the mining company and 1.200 people for the Control Group. Diseases were coded following the International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 10th Revision (ICD 10).

Chronic Intermittent Hypobaric Hypoxia Exposed Group (CIHH)

All workers belonging to the mining company or contractors working under shift systems exposed to chronic intermittent hypobaric hypoxia at 4.600 m. were considered, with no regards to their specific labor areas or working load. Working activities were developed in altitudes and resting periods at sea level. Shifts were 4x4, 7x7, 15x15. All workers were subjected to a health examination prior to their incorporation to the mining works by an independent company. The group was composed mainly by men (97%) and age ranging from 20 to 50 years old.

Control Group (CG):

Subjects belonging to another public institution residing and working under a shift system at sea level, with similar gender characteristics (96% men) and age range between 18 and 50 years old. They presented similar health conditions to those of the exposed population, such as medical examination as a requirement to incorporation, periodic health examinations and free access to medical care.

Data Analysis

Data analysis was performed with SPSS V.12.0 software obtaining: distributions by total consultations, specific and great groups morbidity. Consultations' incidence rates were established based upon the quotient between the consultation quantity within the period of time versus the total quantity of people feasible to consult within that period. Comparisons were made between both group proportions, using one-way ANOVA and bi and multivariate analysis through logistic regression. Significance level was determined in $p < 0,05$.

RESULTS

General Morbidity:

It is noticeable the higher number of consultations per person for morbidity inside the Chronic Intermittent Hypobaric Hypoxia group (CIHH), during all the studied period, with a rate of six consultations/year/person in the exposed group and 1.8 in GC, OR 3.3. A seasonable variation with higher incidence during winter it is also observed. Fig. 1

All great morbidity groups have a higher consultation incidence per subject ($p < 0,05$) in CIHH group. The first cause for the consultations were respiratory diseases, accounting for more than a half of the consultations (51.4%) in CIHH group, with an incidence rate of 248.1 x 1,000. Digestive diseases appear in the second place and traumatism in third place (64.2 and 32.3 x 1,000 respectively). Fig. 2

For the purpose of this publication only some morbidity groups have been chosen based upon the burden they represent, their association to altitude exposure or for the interest they arose.

Respiratory Diseases:

Respiratory diseases represent an overload rated 7.7 times higher in CIHH group and a seasonal behavior with higher values in winter (Fig. 3). Even though no differences were noted in the distribution of the specific subgroups causes, there is a higher incidence rate in all subgroups for the CIHH group, being acute morbidity (pharyngitis, grippe and tonsillitis) the most relevant for the group at altitude (Table 1).

Eye, Skin and Ear Diseases:

In relation to eye's diseases, the altitude group presents a risk excess 2.9 times higher than control group data (Table 2). Specific morbidity or causes within the subgroup show a different epidemiologic profile between both studied groups. CIHH prevailing diseases were conjunctivitis and actinic keratitis (87% and 5% respectively) and refraction vices (54%) in CG.

Even though skin's diseases present a lesser consultation risk compared with the above morbidity group (only 1.5 times of risk excess), (Table 2) it highlights non-infectious dermatitis distribution as the main cause inside the CIHH group (72.8% vs. 38.3%).

Regarding ear's and related diseases, an excess of risk of 1.7 is observed, (Table 2), and again, its distribution shows in CIHH group a different epidemiological profile, with otitis in first place (69%) and epistaxis in the second place (20%), the latter without representation in the CG.

High Blood Pressure, Headache and Acute Mountain Sickness:

Analyzing some diseases or specific symptoms, we can observe that: even though circulatory illnesses occupy the ninth place as a consultation cause, the 85% of them in CIHH group is accounted for High Blood Pressure (HBP), while in CG it represents only the 46% ($p < 0.001$), which means a consultation risk of 3.1 times higher in altitude group (Table 3).

Regarding headache -the cardinal symptom of Acute Mountain Sickness (AMS)- it shows up as an important proportion of specific consultation cause in altitude group (7th place). The incidence rate remains constant along time at a level quite high, with a risk of 9.5 times higher ($p < 0.001$) (Table 3).

AMS, pathognomonic ailment of altitude effects, shows up with an incidence rate of 19.3 x 1.000 (Table 3). The analysis of AMS with certain variables, such as heart rate and systolic and diastolic blood pressure, shows only a weak correlation with SaO_2 of Hb (average SaO_2 : 86.4 vs. 89.2) OR 1.3, $p < 0.01$. Monthly incidence curve shows a certain seasonality, being higher during winter months (Fig. 4).

DISCUSSION

This study is an important contribution and the first epidemiological research about morbidity and health burden in mine workers undergoing chronically intermittent high altitude exposure. This condition has showed an important sanitary impact characterized by a noticeable overall illness burden and a respiratory illnesses predominance, especially the high respiratory tract acute ones. Additionally, it is described other diseases that may be associated to environmental conditions and a AMS symptoms persistence over the time elapsed.

Our general results clearly show that in this labour condition, there is a higher number of a consultation either in absolute numbers or in morbidity and illness risk, representing a heavy burden for the sanitary systems. This higher incidence of morbidity found, has not been possible to compare to other intermittence condition, given the difficulty to find epidemiological studies in mining settings. Although it is foreseen some morbid conditions, as it has been described thoroughly in the current literature, it was not known whether this new condition could present similarities or differences in relation to other types of exposure (acute and chronic).

In different studies, morbid conditions are ascribed to high altitude hypoxia, be it acute or chronic (AMS, CMS, HAPH, etc.), (Brundett, 2002; Monge and León-Velarde, 2003) and some other related to it and/or environmental aspects (actinic lesions, neurological lesions, etc.) (Bansyat et al, 2000). Likewise, some epidemiological focused studies indicate high blood pressure, respiratory, gastrointestinal illnesses, metabolic and trauma among others (Marticorena et al, 1969; Calbet, 2003; Temte, 1996; Caceres et al, 2004; Hochedez et al, 2004; Sadnicka et al, 2004), although such studies do not specifically undertake the volume or health burden involved.

Nevertheless, in CIHH some studies are focused toward different biological responses of the exposed population (Richalet et al, 2002; Heinecke et al, 2003; Sarybaev et al, 2003). These show persistence of AMS, pulmonary artery hypertension, sleep quality disturbances and moderate polycythemia, among others. In the chronic condition, the main epidemiological comprehensive study, has been carried out in

Cerro de Pasco (León-Velarde y Arregui, 1994), in miners and others, establishing that altitude would cause specific illnesses (migraine, CMS) and other co-morbidities (respiratory illnesses).

The current study add to the work of León-Velarde and Arregui, by showing the results in another condition of exposure to high altitude. It is shown that all the groups of morbidity hold a higher incidence at the exposure, and that the greater burden of morbidity is accounted for the respiratory diseases, with a magnitude over 50% and a high rate of incidence, representing an unavoidable and priority health problem. On the other hand, it is established that the working condition in high altitude is the most important factor in the explanation of this phenomenon, since the other variables such as bio demographic, shift, health condition, and sanitary systems, have been adjusted and compared with a similar control group.

Respiratory:

With regard to the respiratory diseases, the literature indicates that this is a main cause for consultations in all populations. Thus, either in condition of acute or chronic exposure, it is described as an important health problem related to hypoxia and/or the environmental factors that surround it (Murdoch, 1995; Basnyat et al, 2000; Hochedez et al, 2004), although the health burden is not usually mentioned. Nevertheless, only referred to mortality, the Cerro de Pasco study shows the respiratory illnesses with a greater lethality. (León-Velarde and Arregui, 1994).

Our results show that the acute illnesses of the upper respiratory tract (pharyngitis, tonsillitis and bronchitis) are the main cause for the health care demand in high altitude (greater proportion and excess of consultation), while the chronic pathologies are not represented. The acute pathologies are coincident as a cause of morbidity with the studies previously mentioned and with some studies on work absenteeism in mining settlements in Chile (Cantuarias and Cornejo, 1993), but it has unfortunately not been possible to make comparisons in magnitude or excess of consultation. This higher incidence, given the seasonal nature observed might be attributed to some environmental factors, but due to the magnitude of the problem observed it must be considered the combined sum of both conditions, where ventilatory changes and immunity compromise at altitude are seen (Thake et al, 2004; León-Velarde and Richalet, 2006)

Eye, skin and ear:

The eye illnesses and related in acute and chronic exposure to high altitude are described in numerous studies, as an associated problem to hypoxia and/or to environmental factors at high altitude (UV, low relative humidity, etc). The most relevant ones are the non specified conjunctivitis, actinic keratitis and retinal haemorrhage. (Klocke et al, 1998; Karakucuk and Mirza, 2000; Basnyat et al 2000). Our results show an excess of risk of 2.9 times more in exposed and the most frequent cause is actinic conjunctivitis; although it can not be ignored that such conjunctivitis can be a mixture or a misdiagnosis of the hypoxic changes of the external eye structures (Basnyat et al, 2000), outlining an issue of importance in labour health amenable to preventive measures.

The skin illnesses show a slight higher rate of incidence and excess of consultation. However, the greater proportion of non specified dermatitis found in the CIHH group, suggest an influence of exposure; not clearly related to hypoxia, but to a phenomenon linked to ultraviolet radiation or working conditions, which coincides with other results in chronic exposure (Deng et al, 2006) and associated to mining work in Chile (Cantuarias and Cornejo, 1993). Likewise for the eye illnesses, this phenomenon deserves some concern.

The ear illnesses and its related, also show an excess of risk in the CIHH group, with an OR of 1.7. Besides there is clearly different pattern of the specific distribution within the subgroup of morbidity, where the otitis represents the first cause for medical consultation in the CIHH group ($p < 0.01$) and the epistaxis is an almost exclusive phenomenon of the exposed and not described previously for this condition. A certain association with the exposure is established, but if this is related to hypoxia or to the environmental factors or to a combination of both, it is not possible to answer in this study. The review of the literature also indicates the ear morbidity as a problem related with exposure to high altitude. Thus, in acute exposure an irritability of the vestibular organs and a reversible delay in the sensory conduction are seen (Mukhopadhyay et al, 2000). Also, in abrupt ascents and descents, the disbarisms, not found in this study, are clearly documented (Mirza and Richardson, 2005).

Regarding the higher otitis frequency found in this study, most of the literature associates it to flight and children (Mirza and Richardson, 2005) and in relation to high altitude work, it appears as a minor cause for work absenteeism (Cantuarias and Cornejo, 1993). If this phenomenon had relation with the intermittence model (numerous ascending and descending), further study is needed. It can not be ignored that for eye and skin pathologies, the environmental factors would have an important role and hypoxia would also be contributing or synergic.

High Blood Pressure, Headache and AMS

Given the characteristics of the group studied and the time of exposure, it was considered important to choose some symptoms or illnesses known to be tracers of hypoxia or high altitude effect.

It has to be noticed that 85% of illnesses regarding the circulatory system is given by HBP in the exposed group, which represents an excess of consultations of 3.1 more times. The literature reviewed shows a great variety of results related to HBP and high altitude, describing an elevation of the blood pressure in acute exposure, minor HBP prevalence and lower values in chronic residents. Although in people coming to live in high altitude, a tendency toward the elevation of both pressures is appreciated, mainly the diastolic one, with less than 10% of conversion rate to chronic HBP, (Marticorena et al, 1969; Mirrakhimov et al, 1985; Khalid et al, 1994; Hanna, 1999). In mining workers exposed to the same studied condition, Richalet et al, 2002, higher blood pressure values are found in high altitude, with a trend to decrease after a period of 2 years.

Consequently, the results show that in this type of exposure a greater excess and a risk of more consultations by HBP is present and associated to exposure ($p < 0.01$) in a steady form during the years of study and it coincides with what has been observed for acute exposure and/or for non-permanent residents.

In relation to headache, a separate analysis has been considered because it high place as the cause for consultation, the importance according to literature as cardinal symptom of AMS, as an isolated symptom for high altitude effect (Basnyat et al, 2000; Hackett, 2003), and also to the fact at the field clinic only moderate to severe AMS (> 5 Lake Louise Score) were considered.

This symptom that accounts for itself 4.4% of the consultations in the CIHH group, and the highest OR (9.5) of all the morbidities, clearly shows its association with the exposure ($p < 0.001$). Its prevalence in other studies, by itself, or as part of AMS in acute exposure goes from 20 to 62% (Hackett and Reinnie, 1976; Hackett, 2003); in chronically intermittently exposed miners remains steady (Richalet et al, 2002) and in miners living at altitude is up to 54% (León-Velarde and Arregui 1994). The importance of this symptom, though most of the time does not represent a serious illness, should be considered for the potential interference with the daily work ability, productivity and sanitary costs (Gerth et al, 2001; Pradalier et al 2004).

Regarding acute mountain sickness (AMS), a pathognomical illness of altitude, it shows a smaller incidence than in the literature for acute exposure. Some probable explanations can be found in the inclusion bias described before and as a result of acclimatization or due to non investigated self control measures, which decrease the incidence (Gaillard et al, 2004). The fact that this morbidity is fairly steady over the time and coincident with the results of the intermittent miners cohort (Richalet et al, 2002), demonstrates that this morbid phenomenon does not disappear with time. Additionally, a weak correlation with the SaO_2 is found (OR:1.3) where the subjects with AMS have, as average, 3.9% less of saturation value, correlation which is coincident to literature, Roach et al, 1998.

CONCLUSION

This publication is an original contribution to knowledge and to the settlement of a basal line for a new epidemiological situation generated by a chronically intermittent working condition at high altitude. As a result of this study, it has been possible to determine the magnitude of the health care demand, the features of the consultations, the consultation risk for the some illnesses and ultimately the foreseen health burden. Likewise, the differences in the epidemiological profile and the excess of consultation were found to have an association to the studied condition (hypoxia, the environment or the combined action of both). On the other hand, most of the causes for consultation were pathologies of low complexity.

Finally, the review of this topic not also show the epidemiological characteristics but also provides information that will allow pursuing further research, the proper allocation of sanitary resources, and preventive measures needed in similar circumstances at present or the future.

ACKNOWLEDGMENT

By grant of FONDEF D 97 I1068 and of Center of Research of Man in the Desert (CIHDE).

REFERENCES

- Basnyat B., Cumbo TA., Edelman R. (2000). Acute medical problems in the Himalayas outside the setting of altitude sickness. *High Alt Med Biol*;1 (3):167-74.
- Brundrett G. (2002). Sickness at high altitude: a literature review. *J R Soc Health*. 122 (1):14-20.

Caceres J., Rojas M., Caceres L., and Ortiz J. (2004). Colesterol total y sus fracciones en adultos de 30 a 39 años, según género y sub-grupos de edad: Cusco. (in Spanish). *Situa*. 13: 12-19.

Calbet J.A. (2003) Chronic hypoxia increases blood pressure and noradrenaline spillover in healthy humans. *J Physiol*. 15;551:379-86.

Cantuarias J., Cornejo E. (1993). Work absenteeism in a mining company: trends in 1985-1988. *Rev Med Chil*; 121(7):827-36.

Deng D., Hang Y., Chen H., Li H. (2006). Prevalence of photodermatosis in four regions at different altitudes in Yunnan province, China. *J Dermatol*; 33(8):537-40.

Gaillard S., Dellasanta P., Loutan L., Kayser B. (2004). Awareness, prevalence, medication use, and risk factors of acute mountain sickness in tourists trekking around the Annapurnas in Nepal: a 12-year follow-up. *High Alt Med Biol*; 5(4):410-9.

Gerth W.C., Carides G.W., Dasbach E.J., Visser W.H., Santanello N.C. (2001). The multinational impact of migraine symptoms on healthcare utilisation and work loss. *Pharmacoeconomics*; 19(2):197-206.

Hackett P.H. (2003). Acute mountain sickness and high altitude cerebral edema: a review for the practitioner. In: *Health and Height. Proceedings of the 5th World Congress on Mountain Medicine and High Altitude Physiology*. G Viscor and A Ricart, eds. *Universitat de Barcelona, Spain*; pp. 9–22.

Hackett P.H., and Rennie D. (1976). The incidence, importance, and prophylaxis of acute mountain sickness. *Lancet*; 2:1149-55.

Hanna J.M. (1999). Climate, altitude, and blood pressure. *Hum Biol*; 71(4):553-82.

Heinicke K., Prommer N., Cajigal J., Viola T., Behn C., and Schmidt W. (2003). Long-term exposure to intermittent hypoxia results in increased hemoglobin mass, reduced plasma volume, and elevated erythropoietin plasma levels in man. *Eur J Appl Physiol*; 88:535-43.

Hochedez P., Vinsentini P., Ansart S., Caumes E. (2004). Changes in the pattern of health disorders diagnosed among two cohorts of French travelers to Nepal, 17 years apart. *J Travel Med*; 11(6):341-6.

Hochedez P., Vinsentini P., Ansart S., Caumes E. (2004). Changes in the pattern of health disorders diagnosed among two cohorts of French travelers to Nepal, 17 years apart. *J Travel Med*; 11(6):341-6.

Karakucuk S., Mirza G.E., (2000). Ophthalmological effects of high altitude. *Ophthalmic Res*; 32(1):30-40.

Khalid M.E., Ali M.E., Ahmed E.K., Elkarib A.O. (1994). Pattern of blood pressures among high and low altitude residents of southern Saudi Arabia. *J Hum Hypertens*; 8(10):765-9.

Klocke D.L., Decker W.W., Stepanek J. (1998). Altitude-related illnesses. *Mayo Clin Proc*; 73(10):988-92.

Leon-Velarde F., and Arregui A. (1994). Desadaptación a la vida en las grandes alturas (In Spanish), *Travaux del Institut Francais d'Etudes Andines (IFEA)*. Editores, IFEA/ Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Peru.

Leon-Velarde F., Richalet J.P. (2006). Respiratory control in residents at high altitude: physiology and pathophysiology. *High Alt Med Biol*; 7(2):125-37.

Martcorena E., Ruiz L., Severino J., Galvez J., and Penaloza D. (1969). Systemic blood pressure in white men born at sea level: changes after long residence at high altitudes. *Am J Cardiol*; 3:364-8.

Mirrahimov M.M., Rafibekova Z.h.S., Dzhumagulova A.S., Meimanaliev T.S., Murataliev T.M., Shatemirowa K.K. (1985). Prevalence and clinical peculiarities of essential hypertension in a population living at high altitude. *Cor Vasa*; 27(1):23-8.

Mirza S., Richardson H. (2005). Otic barotrauma from air travel. *J Laryngol Otol.*; 119(5):366-70.

Monge C.C. and León-Velarde F (2003). El Reto Fisiológico de Vivir en los Andes. [in Spanish]. Tomo 177. *Travaux del Institut Francais d'Etudes Andines (IFEA)*. Editores, IFEA/ Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Peru.

Mukhopadhyay S., Thakur L., Anand J.P., Selvamurthy W. (2000). Effect of sojourn at altitude of 3,500 m on auditory evoked potential in man. *Indian J Physiol Pharmacol*; 44(2):211-4.

Murdoch D.R. (1995). Symptoms of infection and altitude illness among hikers in the Mount Everest region of Nepal. *Aviat Space Environ Med*; 66:148-51.

Neubauer J.A. (2001). Invited review: Physiological and pathophysiological responses to intermittent hypoxia. *J Appl Physiol*; 90:1593-9.

Pradalier A., Auray J.P., El Hasnaoui A., Alzahouri K., Dartigues J.F., Duru G., Henry P., Lanteri-Minet M., Lucas C., Chazot G., Gaudin A.F. (2004). Economic impact of migraine and other episodic headaches in France: data from the GRIM2000 study. *Pharmacoeconomics*; 22(15):985-99.

Richalet J.P., Donoso M.V., Jimenez D., Antezana A.M., Hudson C., Cortes G., Osorio J., Leon A. (2002). Chilean miners commuting from sea level to 4500 m: a prospective study. *High Alt Med Biol*. 2002 Summer; 3 (2):159-66.

Roach R.C., Greene E.R., Schoene R.B., Hackett P.H. (1998). Arterial oxygen saturation for prediction of acute mountain sickness. *Aviat Space Environ Med*; 69 (12):1182-5.

Sadnicka A., Walker R., Dallimore J. (2004). Morbidity and determinants of health on youth expeditions. *Wilderness Environ Med*; 15(3):181-7.

Sarybaev A.S., Palasiewicz G., Usupbaeva D.A., Plywaczewski R., Maripov A.M., Sydykov A.S., Mirrahimov M.M., Le Roux H., Kadyrov T., and Zielinski J. (2003). Effects of intermittent exposure to high altitude on pulmonary hemodynamics: a prospective study. *High Alt Med Biol*; 4:455-63.

Siqués P. and Brito J (2001). Trabajo a Gran Altura Intermitente. Nueva situación Epidemiológica. [in Spanish]. Tomo 177. *Universidad Arturo Prat. Iquique, Chile*.

Temte J.L. (1996). Elevation of serum cholesterol at high altitude and its relationship to hematocrit. *Wilderness Environ Med*; 1996 7:216-24.
 Thake C.D., Mian T., Garnham A.W., and Mian R. (2004). Leukocyte counts and neutrophil activity during 4 h of hypobaric hypoxia equivalent to 4000 m. *Aviat Space Environ Med*; 75:811-7.

Fig 1: Monthly incidence rate per individual of total morbidity consultation.

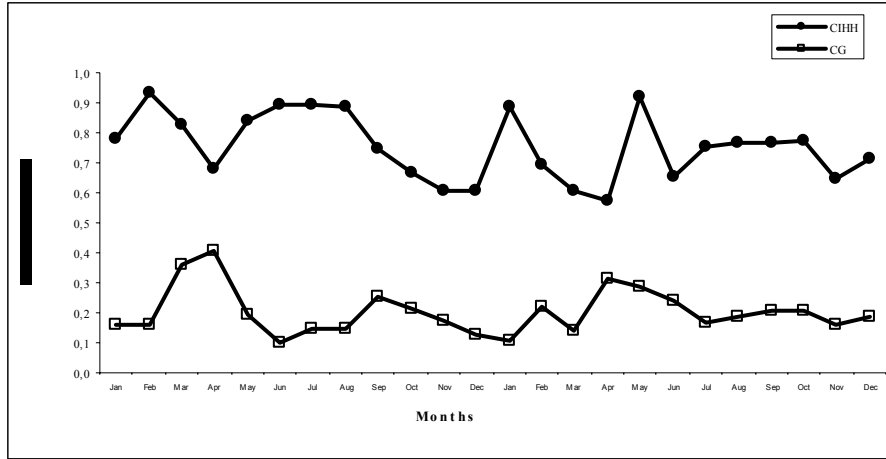


Fig 2: Comparative incidence rates x 1.000 according to main groups of morbidity

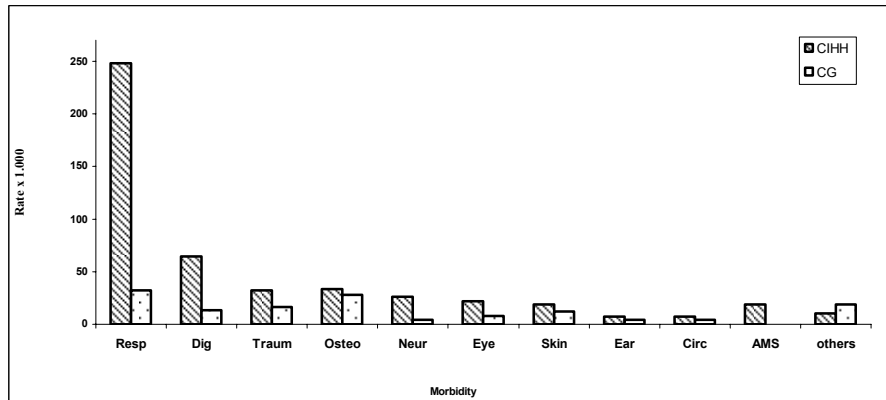


Fig 3: Comparative monthly incidence rates x 1.000 by respiratory morbidity

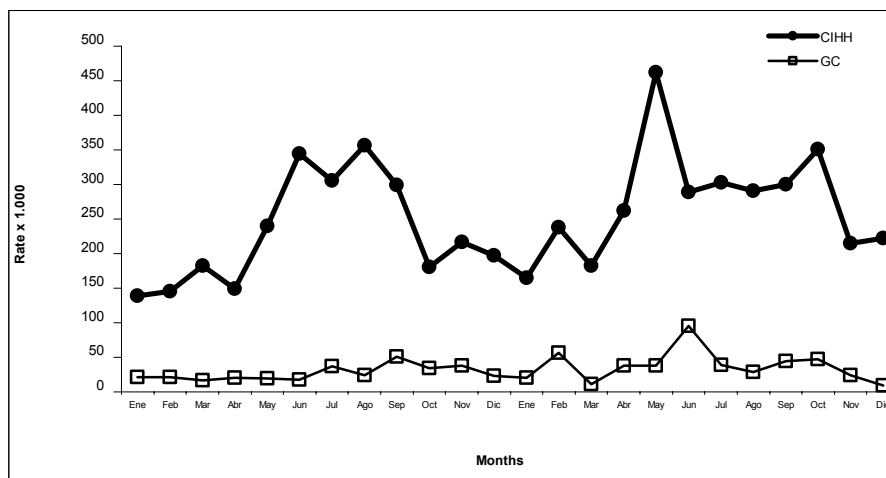


Table 1: Comparative Incidence rate x 1.000 in Respiratory Sub Group. Odd ratio (OR) and P-value

Sub Group	CIHH	CG	OR	P value
Acute Upper Respiratory Tract	151	20	7.5	<0.001
Grippe	45	5	8.6	<0.001
Acute Lower Respiratory Tract	39	6	6.5	<0.001
Others	12	2	2	<0.001

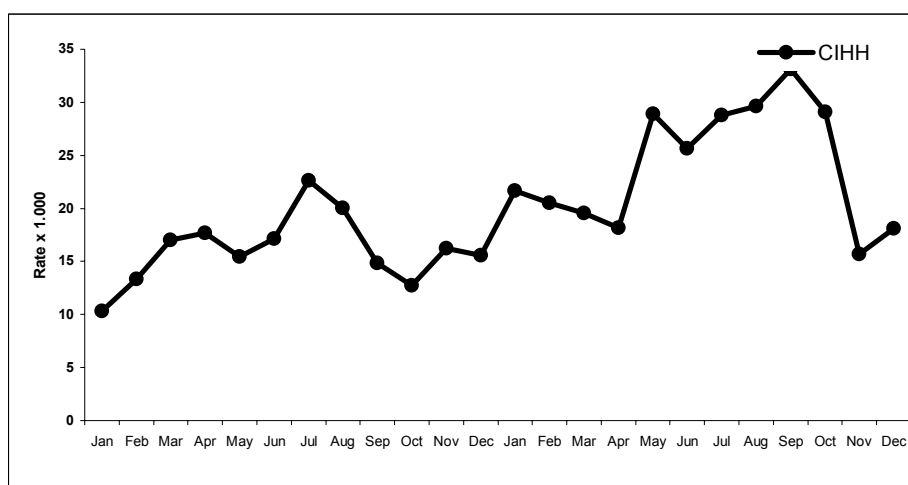
Table 2: Comparative incidence rate x 1000 for eye diseases, skin diseases and ear diseases, Odd ratio (OR) and P-value

Morbidity Group	CIHH	CG	OR	P value
Eye diseases	22.0	7.6	2.9	< 0.001
Skin diseases	18.9	12.3	1.5	< 0.01
Ear diseases	7.2	4.3	1.7	< 0.01

Table 3: Comparative incidence rate x 1.000 of high blood pressure (HBP), headache and Acute Mountain Sickness (AMS), Odd ratio (OR) and P-value

Morbidity	CIHH	CG	OR	P value
HBP	5.9	1.9	3.1	< 0.001
Headache	23.7	2.5	9.5	< 0.001
AMS	19.3	*	*	*

Fig 4: Monthly acute mountain sickness (AMS) incidence rates x 1000



Copia de carta de aceptación, Publicación N°: 2

Manuscript acceptance memo

Julio Brito
jbritor@tie.cl

04 Apr 2007

Dear Julio Brito

Re: Varying exposure regimes to long term chronic intermittent hypoxia exert different outcomes and morphological effects on Wistar rats at 4600m

Authors: Julio Brito, Patricia Siqués, Fabiola León-Velarde, Juan José De La Cruz, Teresa Barlaro, Vasthi López, Rafael Herruzo

Production tracking number: GTEC 238109

Your paper for Toxicological & Environmental Chemistry has been received by the Taylor & Francis production department. Contact details for the assigned production editor are listed below.

A user account has been created for you for our online CATS system.
<http://cats.tfinforma.com/PTS/in?>

Log in with the following details:
User Name: BRIT0J
The password is the same as your User Name.

If available, a projected date of proof distribution is provided on the author page. You will receive another e-mail when your proof is ready for correction.
Please print and sign the attached copyright form and send or fax it back to the Taylor and Francis address given at the end of this email (unfortunately a scanned version of the copyright form is not acceptable, due to legal reasons).

Yours sincerely,
Kirstin Heilmann
Production Editor
Email: kirstin.heilmann@informa.com
Phone: 00442070176513
Fax: 00442070176336

Physical, Behavioural, Environmental and Agricultural Sciences
Taylor & Francis
4 Park Square
Milton Park
Abingdon
Oxon
OX14 4RN
United Kingdom

Varying exposure regimes to long term chronic intermittent hypoxia exert different outcomes and morphological effects on Wistar rats at 4600 m

JULIO BRITO^{1,2}, PATRICIA SIQUÉS^{1,2}, FABIOLA LEÓN-VELARDE³,
JUAN JOSÉ DE LA CRUZ⁴, TERESA BARLARO¹, VASTHI LÓPEZ^{1,2},
& RAFAEL HERRUZO⁴

¹*Instituto de Estudios de Salud, Universidad Arturo Prat, Chile,* ²*Centro de Investigaciones del Hombre en el Desierto, Chile,* ³*Departamento de Ciencias Biológicas y Fisiológicas/IIA, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Peru,* and ⁴*Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Universidad Autónoma de Madrid, Spain*

(Received ■■■ ■■■; revised ■■■ ■■■; in final form ■■■ ■■■)

Abstract

The aim of this study was to compare differences in morphological effects following two regimens of simulated chronic intermittent hypoxia (4600 m) during 12 months, compared to chronic hypoxia and normoxia. Male Wistar rats were randomly assigned to four groups: Chronic intermittent hypoxia (CIH) 2 × 2 (2 days hypoxia, 2 days normoxia, $n = 50$), CIH 4 × 4 (4 days hypoxia, 4 days normoxia, $n = 50$), chronic hypoxia (CH) (permanent, $n = 28$) and control (NX) (normoxia, $n = 24$). Hypoxia was simulated in a hypobaric chamber (428 torr). The following parameters were assessed: ventricle wall thickness, presence of congestion, edema, hemorrhage, thrombosis, necrosis, and renal casts. In general, mortality was significantly associated with heart congestion, pulmonary edema, pulmonary hemorrhage, and liver necrosis. Intermittent as well as chronic exposure produced a common pattern of manifestations in all organs, with varying severity and time of occurrence. Right ventricle hypertrophy was observed in CIH 2 × 2 and CIH 4 × 4 but attained lower values than in CH. Further, the coefficient of right ventricular wall thickness rose markedly dependent upon exposure duration. Renal casts and thrombosis were also shown to be the signs of hypoxic damage. Morphological effects in intermittent hypoxia resembled an intermediate severity position compared to CH and tended to occur later, indicating that a shorter regimen seemed to be less harmful.

Keywords: *Altitude, chronic intermittent hypoxia, right ventricular hypertrophy, lung, kidney, liver, environmental impact, morphology*

Correspondence: Julio Brito, Instituto de Estudios de Salud, Universidad Arturo Prat, Avda. Arturo Prat 2120, P.O. Box 223, Iquique, Chile. Tel.: 56-57-453766. Fax: 56-57-453766. E-mail: jbrito@ie.scl

ISSN 0277-2248 print/ISSN 1029-0460 online © 2007 Taylor & Francis
DOI: 10.1080/02772240701392206

Introduction

Copper (Cu) and occupational extraction of other minerals extraction at high altitude (above 4000 m) in Chile is rather involves a considerable amount of individuals. In this occupation, individuals work at high altitude for several days followed by a rest period at sea level, with a frequency that varies from 4 to 40 days and occurs over long time periods in a person's life, which is thus similar to being exposed to chronically intermittent hypoxia (CIH) [1].

It is well known that altitude and hypoxia affect the humans in several ways producing adverse physiological and pathological changes [2] following acute or a chronic exposure. Short term intermittent hypoxia was studied extensively mainly during physical training conditions [3], but chronic intermittent hypoxia has received increasing attention only in recent years. As a consequence, there are few investigations to explain if exposure to CIH affects individuals in a similar manner. Further, there are insufficient studies regarding the effects of different exposure regimes of CIH.

Some physiological and morphological organ changes are known to occur in response to hypoxia, including for acute hypoxia: (1) high altitude pulmonary edema (HAPE), (2) high altitude cerebral edema (HACE), and (3) pulmonary hemorrhage [4]. During chronic exposure manifestations include chronic mountain sickness (CMS), polycythemia, high altitude pulmonary hypertension (HAPE), right ventricular hypertrophy, hypercoagulability, thrombosis, and renal alterations [2, 5, 6]. Regarding CIH studies, in humans, a mines cohort (3 years) showed elevation of hematocrit, a higher percentage acute mountain sickness (AMS), and enlargement of the right ventricle wall [1]. For animals exposed to CIH, data are predominantly obtained from short periods of exposure and usually did not compare different exposure regimes. Some studies performed in rats showed that alterations appear related to the intensity of hypoxia in pulmonary vascular bed [7], associated with elevated hematocrit which is less severe and more delayed in CIH than CH [8] accompanied by right ventricle hypertrophy [9].

Since, the mechanisms underlying changes during CIH and influence of differences in exposure duration are not clearly understood, it was of interest to examine the effects of CIH on rats. An experimental protocol was designed to assess and compare, using morphological techniques, how different exposure regimes of CIH influence different organs in Wistar rats exposed to CIH at (4600 m) compared to a chronic hypoxia (CH) and control at sea level (SL) for 12 months.

Materials and methods

Groups under study

A total of 152 adult (3 months old) male Wistar rats, weighing ~ 190 g, were randomly assigned to four regimens of exposure over a 12-month period. A normoxic control group (NX), $n = 24$; a chronic intermittent hypoxia (CIH2 \times 2), 2 days in hypobaric hypoxia and 2 days in normoxia, $n = 50$; a chronic intermittent hypoxia (CIH4 \times 4), 4 days in hypobaric hypoxia, and 4 days in normoxia, $n = 50$, and a permanent chronic hypoxia (CH), $n = 28$.

To avoid bias related to hormonal influences and maintain some resemblance to our human miner population, only male, adult rats were included. The hypobaric conditions were simulated in a hypobaric chamber at 428 torr, equivalent to an altitude of 4600 m, with an internal flow of $3.14 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ of room air ($0.09 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ of air per rat), a temperature ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) and a 12h light:dark cycle were maintained. Four animals were allocated per

cage and received feeding (10g day^{-1} of pellets per rat) and water supply using current dispensers. The chamber was opened every two days for ~ 30 min to clean and provide food. The control group was placed in the same room under comparable conditions except for hypoxia. Organ retrieval and histological examinations were performed in exposed rats that died and control rats sacrificed at 3, 9 or 12 months.

Morphological study

The heart, lung, liver, and kidneys were removed from every deceased or sacrificed rat (NX). The following parameters were studied for presence of: Congestion, edema, hemorrhage, necrosis, thrombosis, and renal cysts. All organs were fixed in Bouin solution, processed in paraffin, cut with microtome, and then subjected to staining with hematoxylin-eosin. Slides were analyzed by a clinical pathologist under a light microscope (Olympus CX31RBSFA, Olympus Optical Co.). Histopathological findings were classified according to Coltran *et al.* (1999). The left and right ventricle wall thickness (LVT and RVT) were also measured in using a micrometric draftsman scale in the Olympus microscope. The design of this protocol were approved by the Ethics Committee of Universidad Arturo Prat, Iquique, Chile.

Data analysis

The analysis was performed using SPSS 12.0 for Windows (SPSS, Inc., Chicago, Ill). Pearson Chi-square test, Yates' correction or Fisher exact probability test, and p -trends when deemed were used for determining the relationship between qualitative variables and napping. For some events (morphologic) findings over time between different exposure regimens, survival analysis was carried out using the Kaplan-Meier test and statistical significance was determined through the log-rank test, also the median of events occurrence was established. To observe associations between mortality and significant variables after the bi-variant analysis, a multivariate analysis was performed using Cox regression. Results were presented as crude (mutually unadjusted) and relative risk (RR). For quantitative variables (heart wall thickness), normality was established using the Kolmogorov-Smirnov test; and differences across all testing conditions, were determined using the one-way ANOVA and *post hoc* tests, adjusted by weight with MANOVA, grouped in periods: 0-3 months, 3-9 months, and 9-12 months. To establish the variation coefficient of right ventricle hypertrophy a multivariate lineal regression was used. The significance level was established at p -value < 0.05 .

Results

A high level of mortality was seen in all hypoxic groups, occurring mainly during the first 3 months, without marked differences between intermittent regimes and CH, even though CH animals showed a lower survival compared to intermittent rats. A lower weight at death was also found in all hypoxic regimes being significantly different from control but not from each other (Table I). The morphological findings associated with mortality, over the experimental periods studied, included: heart congestion, pulmonary edema, pulmonary hemorrhage, and liver necrosis.

Table I. General characteristics.

Parameter	NK	CIH2 × 2	CIH4 × 4	CH
<i>N</i>	34	50	50	38
Deceased	34 ^a	39 (77%)	42 (84%)	28 (89%)
Weight at death	396.1 ± 13.4 ^a	300.7 ± 5.3	185.4 ± 4.7	182.6 ± 8.5
Survival days	251.8 ± 22.0 ^a	125.8 ± 21.5	115.2 ± 17.8	104.2 ± 30.9

N: number; Values are Means ± SD.

^aSacrificed rats.

Table II. Morphological findings.

Organ Manifestation	NK	CIH2 × 2	CIH4 × 4	CH
Heart				
Congestion	4.3%	44.7% ^a	71.7% ^a	96% ^a
Necrosis	ND	ND	22% ^a	4%
Thrombosis	ND	2.6%	6.3%	4%
Lung				
Edema	8.3%	52.6% ^a	23.9% ^a	46% ^a
Hemorrhage	2.9%	63.2% ^a	84.8% ^a	68% ^a
Thrombosis	ND	26.3% ^a	39.1% ^a	68% ^a
Liver				
Congestion	50%	90.9% ^a	84.3% ^a	87.5% ^a
Necrosis	ND	ND	21.6% ^a	12.5% ^a
Hemorrhage	ND	22.7% ^a	28% ^a	50% ^a
Thrombosis	ND	13.6% ^a	37.3% ^a	54.2% ^a
Kidney				
Congestion	50%	75%	90.9%	100%
Edema	ND	7.9% ^a	63.6% ^a	28.6% ^a
Cysts	ND	ND	36.4% ^a	71.4% ^a

Values are given in %; ND: not detected.

^aSignificant from control ($P < 0.05$).

Morphological effects

The analysis of effects or morphological changes was carried out for each organ and the results are provided in Table II.

Heart. The most predominant morphological finding was congestion that affected 96% CH rats. Congestion is clearly associated with this type of exposure and showed a linear trend, where longer exposures are followed by greater and more severe rates of congestion. Survival curve analysis shows a difference between regimens, and median events occurrence appear earlier in the CH (39 days) and CIH4 × 4 (60 days), but are delayed in the CIH2 × 2 (270 days), Figure 2(a). Myocardial necrosis was only found in CIH4 × 4 (22%) and CH (4%), showing a correlation with exposure, occurring after day 60. There were few cases of coronary thrombosis.

Heart wall compromise. To assess the grade of ventricle hypertrophy, thickness measures were recorded, adjusting for the weight at death (possible confusion variable) and separated

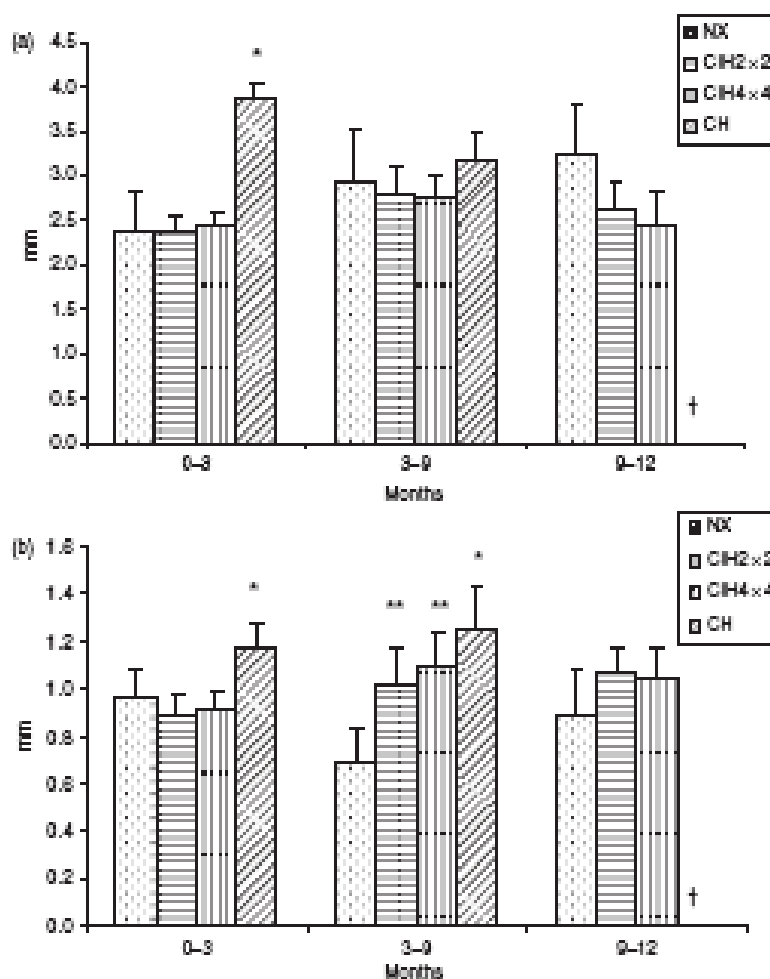


Figure 1. Ventricle thickness: (a) left ventricle and (b) right ventricle in millimeter. Values are means \pm confidence intervals. ($p < 0.05$, * p is significant to NX, ** p is significant for chronic intermittent hypoxia (CIH) to chronic hypoxia (CH), and †no data.)

for periods (0-3, 3-9, and 9-12 months). A statistically significant greater left ventricle thickness (LVT) was found only during the first period (0-3 months) in CH rats. For the right ventricle thickness (RVT), the same strata analysis showed during the first period (0-3 months) an increase only in CH group. Nevertheless, during the second period studied (3-9 months), intermittent and chronic regimens show a higher RVT compared to control group but intermittent animals had less RVT compared to CH without differences between them. No changes were noticed during the last period observed, and no deaths in CH, Figure 1. In addition, using a multivariate logistic regression, it was possible to determine the coefficients of RVT increase for each month of life (0.01 mm) and for each upward change in regimen (0.05 mm).

Lung. Edema and hemorrhage present a similar frequency in both groups CIH2 × 2 (53 and 63%) and CH (48 and 68%), whereas the CIH4 × 4 group showed less edema (23%) and more hemorrhage (84%) and all presenting a clear association with the type of exposure. The majority of edema occurred quite early in those rats deceased between 30–60 days (Figure 2b). Thrombosis was only seen in the hypoxic groups, increasing as exposure duration was extended.

Liver. No damage was observed in NX except for hepatic congestion, occurring frequently in hypoxic groups (near 90%), presenting a linear association with the duration of exposure. Necrosis occurred in a low frequency only in CH and CIH4 × 4 (22 and 13%), showing a significant association with exposure duration and with mortality.

Hemorrhage was only seen in the hypoxic groups with a relatively low frequency in CIH2 × 2 and CIH4 × 4 (23 and 28%), whereas CH incidence was markedly higher (50%) and associated with exposure duration. Thrombosis was equally seen just only in the hypoxic groups, being less frequent in CIH2 × 2 (14%) and more frequent in CH (54%) with a significant association with exposure duration. Thrombosis appeared following half of the exposure period, in CH (173 days) and in CIH4 × 4 (278 days), Figure (3a).

Kidney. Congestion was found in all groups with a high frequency in hypoxic rats showing a significant linearity with exposure duration, with CH the most affected. Edema occurred only in the hypoxic groups with a greater frequency in intermittent groups and was significantly different from control. Renal cysts represent a unique phenomenon of damage and were found only in CIH4 × 4 (36%), with a significant frequency in the CH (71%), clearly associated with exposure regimen and was present as early phenomenon in CIH (89 days) and a late one in CIH4 × 4 (354 days), Figure 3 (b).

Discussion

This study shows some morphological findings associated with mortality. Most of the alterations were related with changes seen in an acute condition as a result of pulmonary hypertension or direct hypoxia [4], and high mortality noted may be explained by altitude, the duration of exposure or a enhanced susceptibility to hypoxia in this rat strain compared to other strains [11]. It is well established that longer periods of exposure pose a challenge in adaptation [12].

Heart

Hypoxia produces an overload into the pulmonary circulation associated initially with constriction of the pulmonary vessels, subsequent remodeling and ultimately hyperplasia of small smooth muscle vessels [13]. In humans living chronically at high altitudes, this entity is described as high altitude pulmonary hypertension [2]. In long term CIH there is an increase in the RV diameter [1]. In rats, similar findings were found in all conditions of hypoxia, being more prominent in the right ventricle as hypertrophy [7, 14] but less in CIH [15]. Left ventricle hypoxia-induced hypertrophy was also noted in chronically exposed humans [6] and rats [16].

In the current study some of the general morphological effects (congestion and necrosis) were found during short term exposures as noted previously [16, 17]. It is noteworthy that congestion seem to occur differently depending upon the organ, where intermittent regimes

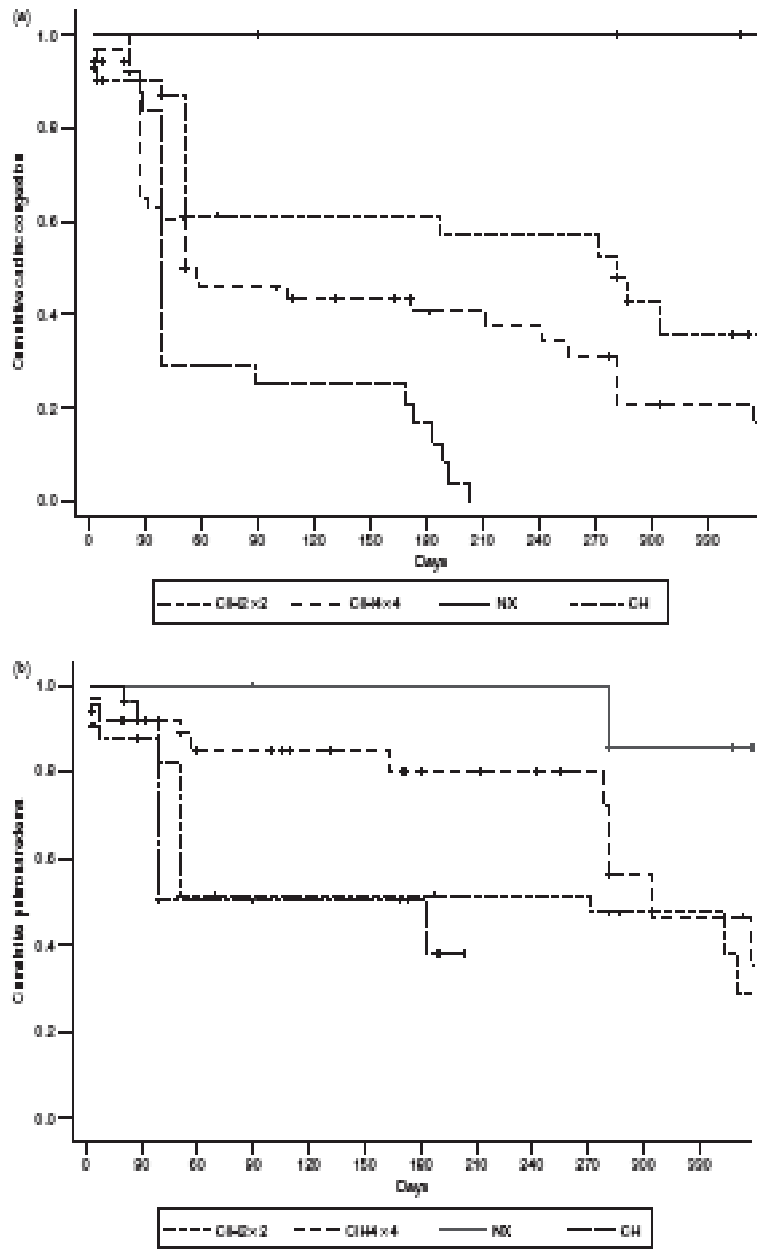


Figure 2. Cumulative curve of morphological findings by exposure regimen: (a) cardiac congestion and (b) lung edema, using Kaplan-Meier survival test.

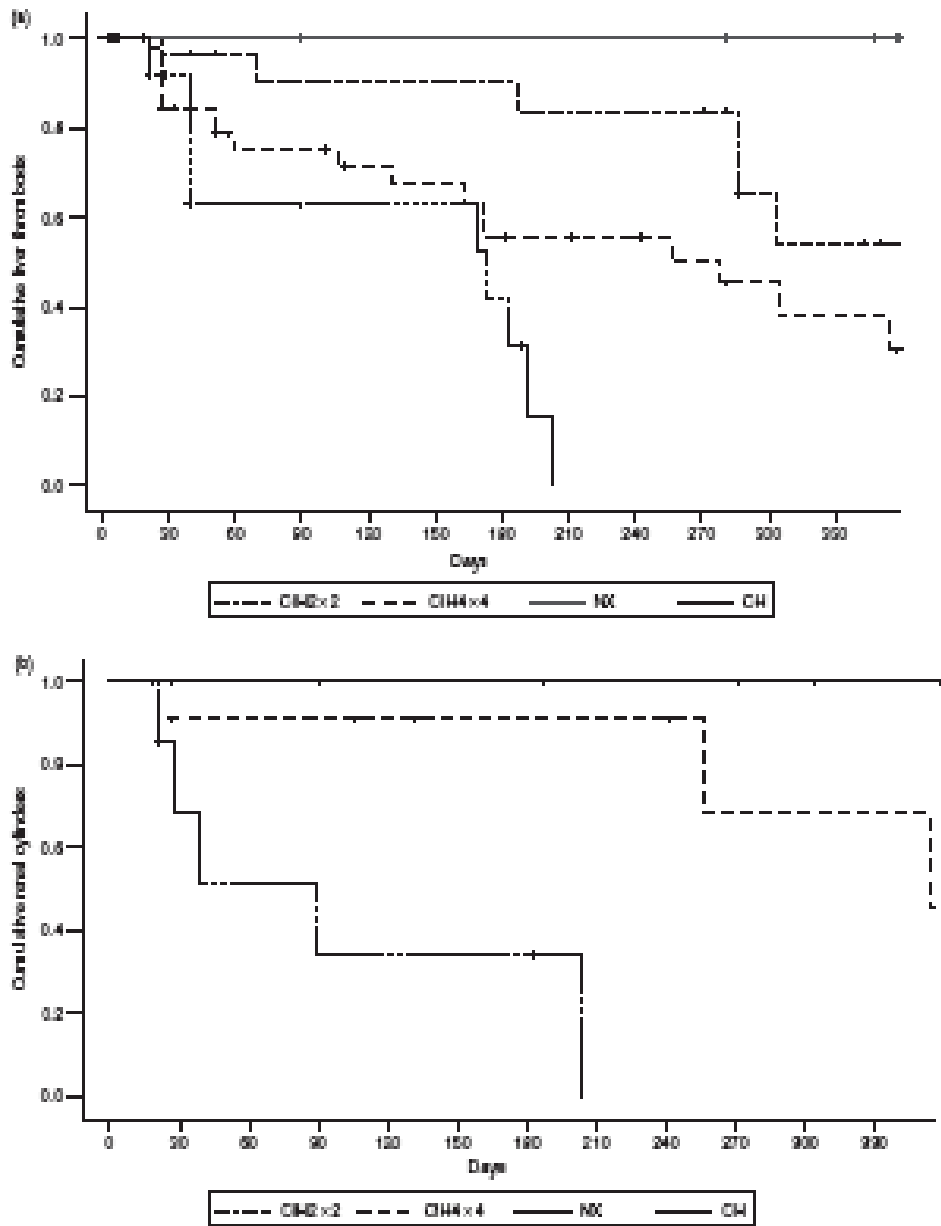


Figure 3. Cumulative curve of morphological findings (event) by exposure regimen: (a) liver thrombosis and (b) renal cases, using Kaplan–Meier survival test.

produced an intermediate response compared to CH and CIH2 × 2, where the effect was less severe and a delayed.

Regarding the thickness of the right ventricle wall, selected as a parameter of secondary damage in pulmonary hypertension, our results not only confirm an association to hypoxia but also that the RVT increase was less during intermittent exposure regimes and took

longer to appear than in CH. Thus time and the type of exposure are variables that need to be considered in addition to age and level of altitude [13]. A logistic regression equation established that whatever the experimental regimen change (hypoxic, from short to longer exposure) and for every month spent in hypoxia, the RVT increased by 0.06mm.

Although less studied, LVH in rats was found following intermittent exposure [16], and in chronic exposure [18], but in our study LVH only appeared in CH and during the first three months. Interpretation of these findings may lie in the marked polycitemia in CH as was previously reported [8], which produces a high viscosity and subsequent left overload as seen in high altitude residents [6].

It was suggested that CIH-induced hypertrophy enhances myocardial performance [3, 19]; however, in the light of our findings and those reported [16, 17], this may not be the case. It should be noticed that these beneficial effects occurred during briefer exposure periods to CIH and at a lower altitude than our current experiment.

Lung

This organ is known to be one of the most affected and sensitive to acute or chronic hypoxia [12, 20, 28]. Edema and hemorrhage are considered as acute manifestations due to a hypoxic pulmonary decompensation [4].

Our results show that edema and hemorrhage depict a different pattern according to experimental conditions and dependent upon organs studied. It is noteworthy that the early appearance and high frequency of edema in the short regimen (CIH2 × 2) was similar to CH, suggesting the predominant effect was hypoxia in these groups with less recovery time at SL.

On the other hand, lung thrombosis is a late event associated with the type of exposure and rarely described in rats – probably due to the fact that most time observations are generally far shorter. In studies on humans living at high altitudes lung thrombosis was reported [5, 6]. Lung thrombosis found in all groups showed a difference between hypoxic regimes, where intermittent regimes displayed a delayed and a lower frequency than CH. The presence of pulmonary thrombosis might explained the greater viscosity (polycitemic effect) or more blood platelet aggregation noted in chronic hypoxia [21].

Liver

Although less investigated in rats and humans, it is well known that all types of hypoxia affect hepatic parenchyma, producing functional [22, 23] and morphological changes [24]. In this study, the liver findings in hypoxic cases confirm this organ was affected. Congestion and hemorrhage appeared early and were linearly related to longer exposures to hypoxia at 4.6 m. These changes suggest not only acute phenomena due to secondary effects of hypoxic pulmonary hypertension but also a *per se* hypoxia phenomena at a cellular level.

Liver thrombosis was not previously reported in rats exposed to hypoxia, but portal vein thrombosis in humans exposed to higher altitudes was described by Anand et al. [5]. Data show an association to the type of exposure and the longer exposure regimes exert greater effects. A different timing (a delayed appearance for CIH regimes) was seen, where the CIH2 × 2 occurs later. Necrosis, despite few cases, showed a strong association with mortality (probably as a result of hepatic failure) and with longer exposures, which has not previously described in CIH.

Kidney

The kidney was also affected by hypoxia but in CIH2 × 2 seemed least affected, and longer periods of exposure (CIH4 × 4 and CH) produced a higher percentage. Morphological renal damage as seen in our results, except casts, was previously reported by [25], including tubular necrosis and glomerular alterations, due to acute hypoxia or trapping of the red blood cells and platelets in polycythemic states [26]. Functional changes due to greater filtration of albumin [27] or less clearance were also described [6].

Acknowledgments

We thank Gabriela Lamas for her invaluable dedication and Cristian Salvaderra, Veterinary, for his skilful assistance. This work was supported by grant from the Universidad Arturo Prat, Iquique, Chile, and Centro de Investigaciones del Hombre en el Desierto, Chile.

References

1. Richalet JP, Donoso MV, Jimenez D, Amézaga A, Hualsan C, Correa G, Oyarzo J, Leon A. Chilean miners commuting from sea level to 4500 m: A prospective study. *High. Alt. Med. Biol.* 2002;3:159–166.
2. Leon-Velarde F, Maggiorini M, Reeves JT, Achauer A, Arana I, Bernard L, Ge RL, Hackler P, Kobayashi T, Moore LG, et al. Consensus statement on chronic and subacute high altitude diseases. *High. Alt. Med. Biol.* 2003;4:147–157.
3. Neubauer JA. Invited review: Physiological and pathophysiological responses to intermittent hypoxia. *J. Appl. Physiol.* 2001;90:1593–1599.
4. Maggiorini M. Cardio-pulmonary interactions at high altitude. Pulmonary hypertension as a common denominator. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2003;543:177–189.
5. Arund AC, Saha A, Jha SK, Kumar R, Sharma V, Adya CM. Portal system thrombosis: A complication of long-term residence at extreme altitude. *Indian J. Gastroenterol.* 2001;20:219–222.
6. Moraga C, Leon Velarde F. 2003. El reto fisiológico de vivir en los Andes [in Spanish]. Universidad Peruana Cayetano Heredia Press, Lima, Perú.
7. Nakatani K, Tajima F, Otsuda H, Nakamura A, Yagura S, Kawai T, Suzuki M, Teribasa C. Pulmonary, vascular responses in man exposed to chronic hypobaric hypoxia at two different altitude levels. *Pathol. Res. Pract.* 1996;192:1057–1067.
8. Sigas P, Brito J, Leon-Velarde F, Barrios L, De la Cruz JJ, Lopez V, Herrera R. Time course of cardiovascular and hematological responses in men exposed to chronic intermittent hypobaric hypoxia (4500m). *High. Alt. Med. Biol.* 2004;7:72–80.
9. Germack R, Leon-Velarde F, Valdes De La Barra R, Parian J, Soto G, Richalet JP. Effect of intermittent hypoxia on cardiovascular function, adrenoceptors and muscarinic receptors in Wistar rats. *Exp. Physiol.* 2002;87:453–460.
10. Coran RS, Kumar V, Collins T. Robbins pathologic basis of disease. 6th ed. Philadelphia, Pennsylvania: WB Saunders Company; 1999.
11. Collice GL, Lee YJ, Chen J, Du HK, Ramirez G, Diem J, Ou LC. Susceptibility to high-altitude pulmonary edema in Madison and Hiltop rats. I. Ventilation and fluid balance. *J. Appl. Physiol.* 1995;78:2279–2285.
12. Sulikowska M. Morphological studies of the lungs in chronic hypobaric hypoxia. *Pol. J. Pathol.* 1997;48:225–234.
13. Penabaz D, Ariza-Solis J. The heart and pulmonary circulation at high altitudes: Healthy highlanders and chronic mountain sickness. *Circulation.* 2007;115:1132–1146.
14. McGuire M, Bradford A. Chronic intermittent hypoxia increases haematocrit and causes right ventricular hypertrophy in the rat. *Respir. Physiol.* 1999;117:53–58.
15. Corno AP, Milano G, Morel S, Tozzi F, Genton CY, Semaja M, Von Segesser LK. Hypoxia: Unique myocardial morphology? *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2004;127:1301–1308.
16. Otsuda R, Urbanova D, Rossi J, Prochazka J, Páouch V, Widimský J. Changes of the right and left ventricles in men exposed to intermittent high altitude hypoxia. *Cor. Vasa.* 1981;23:111–120.

17. Joyeux-Paine M, Stanke-Labanque F, Leffevre R, Beguin P, Godin-Ribuot D, Ribuot C, Lavoie SH, Renaud G, Levy P. Chronic intermittent hypoxia increases inflammation in the isolated rat heart. *J Appl Physiol.* 2004;98:1691–1696.
18. Giacomini A, Cristallo M, Lusa S, DeAlfieri W, Condorelli M. Bilateral ventricular hypertrophy in man exposed to acute or chronic hypobaric hypoxia. *Respiration.* 1993;44:289–293.
19. Auer G, Nesch J, Stamm G, Papoušek P, Oswald R, Kolar F. Effects of adaptation to intermittent high altitude hypoxia on ischemic ventricular arrhythmias in man. *Physiol Res.* 2000;49:597–604.
20. Vyas-Somani AC, Aziz SM, Arora SA, Gillispie MN, Olson JW, Lipke DW. Temporal alterations in basement membrane components in the pulmonary vasculature of the chronically hypoxic rat: Impact of hypoxia and recovery. *Am J Med Sci.* 1996;312:54–67.
21. Dunkley M, Dooly M, Cox D, Bradford A. Chronic intermittent asphyxia increases platelet reactivity in man. *Exp Physiol.* 2005;90:411–416.
22. Ohtsuka T, Itoh H, Yamamoto T, Mizumi C, Yamazaki Y. Effect of hypoxia on norepinephrine of various tissues in man. *Wilderness Environ. Med.* 2005;16:23–26.
23. Tokuyoshi C, Kametani G, Raunag M. Effects of acute and adaptive hypoxia on heat shock protein expression in hepatic tissue. *High Alt Med Biol.* 2003;4:247–255.
24. Tamm F, Gagnadoux F, Chazouilleres O, Fleury B, Windum D, Lamer R, Labrous R, Pouyon R, Sorley L. Chronic liver injury during obstructive sleep apnea. *Hepatology.* 2005;41:1290–1296.
25. Nangaku M. Hypoxia and tubulointerstitial injury: A final common pathway to end-stage renal failure. *Nephron Exp Nephrol.* 2004;98:9–12.
26. Chien CT, Chen CP. Ischemic renal failure in chronic hypoxic rats. *Renal Failure.* 1994;16:255–261.
27. Hansen JM, Karamap H., Richards JP, Olson NV. High altitude-induced albuminuria in normal man is enhanced by infusion of low-dose dopamine. *Scand J Clin Lab Invest.* 1994;56:367–372.
28. Nakamishi et al. ■■-1997.■■■.

Copia de carta de aceptación, Publicación Nº: 3

Dear Dr. Brito,

Thank you for sending us the revised manuscript. I am happy to inform you that this is now acceptable for publication. Thank you very much for submitting this article to *High Altitude Medicine & Biology*.

The Editorial Office has one requirement for the final version of the manuscript:

Manuscript #06-1043R

Title: Chronic Intermittent Hypoxia at High Altitude Exposure for Over 12 years: Assessment of Hematological, Cardiovascular, and Renal Effects

Authors: Julio Brito, Patricia Siqués, Fabiola León-Velarde, Juan José De La Cruz, Vasthi López, Rafael Herruzo

* glossy photographic prints of all figures will be required for reproduction purposes; send these via courier/express mail to:

John B. West, M.D., Ph.D.
UCSD Dept. of Medicine, MTF 208
9500 Gilman Dr.
La Jolla, CA 92093 USA
tel. +1.858.534.4192

Alternatively, EPS or TIF files are acceptable; these can be sent via e-mail to <mailto:hamb@ucsd.edu>

* indicate whether you are willing to pay charges for color reproduction of the figures at the rate of \$275 per piece of color art plus \$1,200 per page of color, or prefer to have them printed in black and white

Please send us the final version, via e-mail if possible, within one month, that is by April 4, 2007.

Best wishes,

John West

Chronic Intermittent Hypoxia at High Altitude Exposure for over 12 years: Assessment of Hematological, Cardiovascular and Renal Effects

Julio Brito^{1,2}, Patricia Siqués^{1,2}, Fabiola León-Velarde³, Juan José De La Cruz⁴, Vasthi López^{1,2}, Rafael Herruzo⁴

1 Instituto de Estudios de Salud, Universidad Arturo Prat, Chile 2 Centro de Investigaciones del Hombre en el Desierto, Chile

3 Departamento de Ciencias Biológicas, Fisiológicas. Facultad de Ciencias y Filosofía/ IIA, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Peru

4 Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Universidad Autónoma de Madrid, Spain

Category: Original Research

Correspondence to: Julio Brito, Instituto de Estudios de Salud, Universidad Arturo Prat, Avda. Arturo Prat 2120, PO Box 223, Iquique, Chile.

Telephone: 56-57-453766. Fax: 56-57-453766.

E-mail: jbritor@tie.cl

Abstract

The aim of this cross-sectional study was to assess the health status of subjects weekly commuting between sea level and 3550 m altitude for at least 12 years (average 22.1 ± 5.8). We studied fifty healthy army men (aged 48.7 ± 2.0), working 4 days in Putre at 3550 m altitude and 3 days rest at sea level (SL) at Arica, Chile. Blood pressure, heart rate, SaO_2 and altitude symptoms (AMS score and sleep status) were measured at altitude (Days 1, 2 and 4) and at SL (Days 1, 2 and 3). Hematological parameters, lipid profile, renal function, and echocardiography were performed at SL on Day 1. The results showed signs of acute exposure to hypoxia (tachycardia, high blood pressure, low SaO_2), AMS symptoms and sleep disturbances on Day 1, which rapidly decreased on Day 2. In addition, echocardiographic findings showed pulmonary hypertension (PAPm >25 mmHg, RV and RA enlargement) in 2 subjects (4%), a PAPm >20 mmHg in 14% and a right ventricle thickness >40 mm in 12%. Hematocrit (45 ± 2.7) and hemoglobin (15 ± 1.0) were elevated but lower than in permanent residents. There was a remarkably high triglyceride level (238 ± 162) and a mild decrease of glomerular filtration rate (34% under 90 ml/min and 8% under 80 ml/min of creatinine clearance). In conclusion, in these preliminary results, in chronic intermittent hypoxia exposure, even over longer periods, most subjects still show symptoms of acute altitude illnesses but a faster recovery. Findings in triglycerides, in the pulmonary circulation and in renal function are also a matter of concern.

Key words: chronic intermittent hypoxia, hematocrit, triglycerides, pulmonary artery pressure, creatinine, acclimatization, acute mountain sickness.

Introduction

Chronic intermittent hypoxia (CIH) exposure at high altitude for long periods is a relatively recent biological, epidemiological and occupational condition. It differs from acute exposure (alpinism) or chronic condition (for people living at altitude), and also from other kinds of intermittent exposure such as sleep apnea or training purposes (Richalet et al., 2002).

This occupational condition implies a commuting system with a certain number of fixed working days at high altitude followed by a certain number of resting days at sea level, over several years. The frequency of these shifts can vary from 4 to 40 days. This occupational condition accounts for a wide range of activities, from mining to astronomical observatories and frontier works. In Chile, most of the working population is involved with mineral extraction, with 7-day average shifts, and this has an enormous impact on the Chilean economy.

Few studies have assessed this occupational situation in a comprehensive manner. The only comprehensive study has been performed on a cohort of miners with a two-year follow-up, in 7x7 commuting days shifts, working between 3800 and 4600m (Richalet et al., 2002); evaluating haematological, hormonal and cardiovascular parameters, also symptoms and sleep quality aspects in altitude. Nevertheless, some specific issues have been separately addressed, such as hematological and cardiovascular (Heinicke et al., 2003) and pulmonary hemodynamic by Doppler echocardiography in a cohort of 26 workers commuting between an elevation of 3700 and 4200m (4-week working shift) (Sarybaev et al., 2003), in different models of intermittent exposures.

Cross-sectional studies show a high level of hematocrit in Chilean residents at 3550m (Heinicke et al., 2003). Cohort studies in Chilean mine workers showed moderately high hematocrit, a slightly high blood pressure, slight enlargement of the right ventricle (RV), acute mountain sickness (AMS) and sleep disorders, with no further modifications (Richalet et al., 2002). In another cohort of miners, mild hypoxic

pulmonary hypertension at altitude resolved after low land staying was also observed (Sarybaev et al., 2003). Whether this last condition means permanent or reversible biological changes in human beings in the long term is still unknown.

No research or comprehensive studies have been published for longer periods of exposure (over 12 years) due to the difficulty of monitoring and following up on health status over such prolonged periods. Therefore, the aim of this study was to assess in a cross-sectional design, the biological and health status through some cardiovascular, hematological, and biochemical parameters in subjects belonging to the Army, who underwent an average of 25 years in a commuting system of 4 days at altitude, and 3 days resting at sea level, with the purpose of building the “natural history” of this kind of exposure.

Methodology

Population: Fifty army personnel, otherwise healthy, subjected to a health exam once a year, exposed to intermittent hypoxia for 12 years or more in a commuting fashion of 4 days at altitude (3550m) at Putre and 3 days at sea level (SL) at Arica, in Chile; were studied in a cross-sectional design.

Measures

General variables: age, weight, height, years of exposure to altitude, and smoking condition.

Cardiovascular: Systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) were measured in the right arm of seated participants after a 5-min rest, using a sized cuff and a standard mercury sphygmomanometer. Heart rate (HR) and SaO₂ using a pulse oxymetry sensor (POX050, Mediad ©) were taken. For purposes of analysis, the average of three readings for each variable, taken at 2-min intervals, was used. Measurements were done at high altitudes: Days 1, 4 and at SL on Day 1. Subjects were their own controls at SL.

Echocardiography was performed at SL on Day 1, by cardiologists, using an M-Mode and Doppler echocardiograph Toshiba®, model sonolayer SSH14-0A. Subjects were examined in the standard position including four-chamber views. The mean pulmonary artery pressure (PAPm) was calculated according to the Kitabatake formula (Kitabatake et al, 1983). Abnormal PAPm was considered >20mm Hg and pulmonary hypertension (PH) in those meeting the following criteria: PAPm \geq 25 mm Hg, right ventricle (RV) and right atrium (RA) enlargement, according to the Venetia Symposium Consensus (McLaughlin, 2004) and ACCP Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (McGoon et al, 2004) criteria.

Symptoms of altitude: “Lake Louise AMS Score” test (Anonymous, 1992), was performed at altitude: Day 1 after sleeping one night in this condition (18 hrs after arrival), at Day 2 and at Day 4 (last day). This was repeated at SL on Day 1, 2 and 3 (last day). AMS was diagnosed when headache plus other symptoms occurred (Hackett, 2003). Similarly, the Spiegel modified questionnaire (Richalet et al., 2002) was used for the sleeping status.

Hematological and biochemical variables: A venous blood sample was taken without stasis, at SL on Day 1. An automatic hematological counter was used (Cell-dyn 3700, Technigén®, USA) for the red and white blood count, and for lipid determination, a specific kit (Chemelex®, Barcelona) for automatic multianalyzer (Selectron XL, Technigén®, USA) was used.

Renal function: A 24-h creatinine clearance was done, at SL on Day 1, using the Jaffe method for creatinine measuring and clearance calculated according to the formula of Crockcroft and Gault, 1976.

Medical records: The medical history of illnesses from the year of appearance was checked.

All participants had volunteered. They were briefed and then a consent form was signed. The design of this protocol had the approval of the Ethics Committee of *Universidad Arturo Prat*, Iquique, Chile.

Data analysis

The results were entered into a database and analyzed using SPSS, version 12.0. (SPSS, Inc., Chicago, Ill). The mean, standard deviation, standard error, and confidence intervals were calculated for each parameter. Normality was established using the Kolmogorov–Smirnov test. ANOVA for repeated measure statistical analysis was performed for HR, SBP, DBP and SaO₂, and for paired differences, a McNemar Chi-square test was used. Also, correlations between variables were done using Pearson's R. To observe associations between some dependent variables (dichotomized at pathological cut value) and significant ones after the bi-variant analysis, a multivariate logistic regression were performed. Results were presented as crude (mutually adjusted) odds ratio (OR) and 95% confidence intervals (CI). The significance level was established at p-value <0.05.

Results

The group had an average age of 48.7±06 years old and showed overweight in 66% of the cases. The average period of exposure to altitude was 22±5.8 years (50% have been 25 or more years in altitude).
Table 1

Cardiovascular variables

Mean SBP at sea level and at high altitude are within the usual expected ranges for similar age population at SL. Nevertheless, an increase in the SBP on the first day of exposure to altitude was evident ($p < 0.001$), recovering the SL values on Day 4 ($p < 0.01$) and an intrasubject distribution by categories showing a high percentage of subjects (42%) with SBP over 130 mm Hg ($p < 0.001$). DBP presents a similar behaviour, rising at altitude on Day 1 ($p < 0.001$), and recovering the SL DBP value on Day 4 ($p < 0.001$). Hypertension categories in intrasubject distribution show a lower percentage (20%) with a DBP over 90 mm Hg ($p < 0.05$, Table 2).

Heart rate also rises, yet within usual ranges, on Day 1 at high altitudes ($p < 0.001$), falling on Day 4 without recovering the SL value ($p < 0.001$). SaO_2 show a significant fall on Day 1 ($p < 0.001$) recovering on Day 4 ($p < 0.001$), yet without reaching previous SL values. In 16% of subjects, SaO_2 was below 89% on day 1 at altitude. (Table 2)

Echocardiogram

Results at SL depicted the following findings: pulmonary hypertension (PH) in 4%, mean pulmonary artery pressure (PAPm) > 20 mm Hg in 12%, nonphysiological tricuspid insufficiency (NPTI) in 48% and 12% with a right ventricle thickness (RVT) ≥ 40 mm (Table 3). The multivariate logistic regression analysis of the PAPm (cut value 25 mm Hg) – with all the significant variables, adjusted by tobacco - shows an association only with triglycerides, R^2 : 0.21, odds ratio (OR): 1.008 (1.002-1.014), $p < 0.05$.

AMS and sleep

A higher score of AMS on Day 1 ($p < 0.001$) is found, observing an incidence of 60% of AMS at high altitude, basically, of moderate form (40%) and almost disappearing on day 2. Those having AMS were 30 subjects with a mean Lake Louise score of 5.4 ± 0.42 points (range 2-10). Also, headache itself represents a very important symptom (66%) together with sleep disorders (66%, $p < 0.001$), including 3 subject without AMS, Fig. 1. Additionally, a very weak correlation between SaO_2 and AMS score (r^2 0.096, p : 0.045) and sleep disturbance score (r^2 0.114, $p < 0.05$) were found on day 1.

Hematology and biochemistry

A hematocrit (Hct) over 45% and hemoglobin (Hb) over 14 g/dL were observed in 60% of the subjects and only 6% of them present Hct values over 50%. Mean plasma creatinine is at up-borderline value (1.1 mg/dl), with 48% of the subjects with a higher value than normal (up to 1.1 mg/dl); 26% present creatinine clearance values in its lower limit (< 90 ml/min), and an 8% have signs of slight renal damage (below 80 ml/min, Table 4).

Lipid profile reveals a high mean value of 238.0 mg/dl, for triglycerides (Normal Value up to 150 mg/dl) and a high proportion (60%) with values over 150 mg/dl, Table 4. The triglyceride multivariate logistic regression (cut value 150), with all the significant variables and adjusted by tobacco, show an association (r^2 : 0.25) and a predictive value, inversely with the SaO_2 on Day 1, OR 1.30 (1.013-1.677), ($p < 0.05$) and positively with the cholesterol, OR 1.03 (1.005-1.055) ($p < 0.05$).

Medical records

The most frequent diseases were Traumatism (22%), high blood pressure (HBP, 20%), and gastroduodenal ulcer (20%).

Discussion

This is the first comprehensive epidemiologic study that attempts to assess the health and biological statuses in a CIH population at high altitude for more than 12 years and reveals a persistent acute reaction to exposure, despite the elapsed years and an unexplained increase of triglycerides. Some objective findings of pulmonary circulatory abnormalities are: a diagnosed PH in 4%, a PAPm > 20 mm Hg at rest (12%), NPTI (48%), RV thickness over 40mm. (12%). Also a slight compromise of the renal function is seen.

CIH would pose a challenge to acclimatization mechanisms, either in an acute or in a chronic phase to achieve a degree of acclimatization to this condition (Powell and Garcia, 2000). Our results suggest that this very long term CIH fails to ameliorate the acute mountain sickness with each ascent, and may have some mildly undesirable effects on the pulmonary circulation. These subjects do not become as acclimated as those of residents of high altitude (Monge and Leon-Velarde, 2003). Considering the results obtained, discussion was divided in acute response, long term response, and further biological and/or health consequences.

Acute acclimatization response

This research study shows an acclimatization pattern characterized by an initial impact and followed by a rapid normalization of the compromised parameters, from Day 2 onwards. This response is depicted on the first day of the shift (Day 1) with a rise in the HR altogether along with the SBP and DBP, and a decrease in SaO₂ and a higher percentage of AMS than the reported in newcomers (34%) after 12 hours of arrival at altitude (Hackett, 2003) and a rather remarkable alteration of sleep quality. This initial response pattern resembles the acute exposure in sojourners as described by Hackett, 2003. However, the acclimatization response would be faster in the study group (from the second day onwards) and probably may be the acclimatization model of this chronically intermittent group.

The comparison between headache and sleep disorders behaviour at high altitudes and SL deserves special mention since headache (Hackett, 2003) and sleep (Weil, 2004) can be considered as tracer symptoms that may indicate hypoxia effects at high altitude. Although, similar features to those described in the current study were noticed by Richalet et al., 2002, it is emphasized that a higher incidence of these symptoms was noted -with an almost complete disappearance on Day 2 and an increased percentage of the symptoms occurring the day before the altitude shift began. The latter observation, may suggest a rather psychological phenomenon (preagonistic-like) and this tendency occurs more often in subjects that develop headache at altitude ($p < 0.05$, Fig. 1).

These results clearly show that in spite of the time elapsed (25 years); subjects still present an incomplete acclimatization. The reason for this phenomenon has not been described comprehensively in literature, and could be hypothesized that some "fast or short" mechanisms are lost at SL or may be absent under this exposure regime. Probably, the persistence of AMS with each ascent may indicate some loss of peripheral chemosensitivity over time of CIH comparable to that of high altitude long term residents, and a resulting gradual loss of hypoxic ventilatory drive upon arrival at altitude, consistent with the observed high incidence of low SaO₂ on day 1. The molecular underlying mechanisms for the above, ascribe a major role to redox-sensitive transcription factors as HIF-1 in activation of some specific genes (Prabhakar and Kline, 2002), but are beyond the scope of this epidemiological study and unfortunately HVR could not be measured.

On the other hand, surprisingly our results do not indicate that intermittent exposure may contribute to a decrease in the initial impact at altitude, especially AMS as has been described (Beidleman et al., 2004), at least in this long term 4x3 commuting regimen. Therefore, this lack of a proper acclimatization to the first day at altitude is outlined as an important issue to consider in labor health settings since a significant number of subjects will suffer from altitude effects.

Long-term acclimatization response

Long-term acclimatization under chronic exposure in natives and permanent residents show as main secondary effects: polycythemia, SBP decrease, high altitude pulmonary hypertension (HAPH), Monge's disease and renal function alteration (Monge and León-Velarde, 2003). For CIH, a moderate rise in the hematocrit, a slight dilation of the RV and a higher PAP have been described (Richalet et al., 2002; Sarybaev et al., 2003).

The changes in the variables shown in our study are coincident with the literature for intermittent exposure so far, yet there are also certain specific features to analyze. Thus, in most of the subjects, Hct and Hb reached a lower value (intermediate) than for residents at altitude over 4000m (Monge and León-Velarde, 2003) or for local natives (Heinicke et al., 2003), as similarly has been seen in our animal model in rats (Siqués et al., 2006). There is no permanent systemic hypertensive response, as it was foreseen accordingly to the mine workers cohort results (Richalet et al., 2002) and epidemiological reports which describe less systemic hypertension in chronic residents (Monge and León-Velarde, 2003). Moreover, the mean SBP in the studied group is lower than the average Chilean SBP for the same age and gender (139 ± 1.5 mmHg, MINSAL, 2003).

On the other hand, it is noticed certain biomedical changes in this group that could turn out as epidemiological concerns. Firstly, there are a great proportion of subjects with high levels of plasma triglycerides in comparison with the average value in a similar population at SL (175 mg/dl, MINSAL, 2003). Even though, this finding could reasonably be explained by the diet (3000 Kcal/daily), the statistical modelling shows no correlation with BMI, tobacco or age, but a correlation between triglycerides and SaO₂ Day 1, which could suggest some role of hypoxia (*per se*).

Higher values of triglycerides in high altitude residents than SL have also been reported (Cáceres et al., 1999) and also in intermittently exposed rats (Li et al., 2006), whereas some researchers report a fall in lipids and triglycerides after an exposure to hypobaric chamber (Tinkov and Aksenov, 2002). To explain high levels of plasma triglycerides, a hormonal influence in lipids and hypoxia has been described

(Ferezou et al., 1988) and also a lesser use of triglycerides in energy production due to lower oxygen concentration (Murray et al., 2003).

Additionally, the Framingham score by categories (Wilson et al., 1998) to assess the cardiovascular risk showed a score of 4.6 ± 1.2 points with a relatively low average coronary heart disease (CHD) risk (event risk: 8.6 ± 5.6). Also, when compared to the estimated risk for the Chilean population (10% of event risk) and stratifying by high and low risk groups, no differences are seen (MINSAL, 2003). Thus, CIH does not seem to bring about a special CHD risk in this group without including triglycerides in the equation.

Secondly, the renal function showed a slight compromise, where 48% of the subjects have plasma creatinine over 1.1 mg/dl, a 26% with a clearance under 90 ml/min, and a 8% under 80 ml/min. A decrease of renal clearance has been reported in the intermittency cohort study of Richalet et al., 2002, after two years and also a fall of glomerular filtration rate in the population under chronic exposure (Monge and León-Velarde, 2003). If this finding is proved to be consistent in further studies, then the measure of renal function should be considered in health assessments at high altitude conditions.

Pulmonary hypertension

Literature shows that chronic hypoxia can produce a cardiovascular remodelling of the pulmonary circulation generating HAPH (Peñaloza et al., 1963, León-Velarde et al., 2005). However, there is little published evidence on long term CIH. For less than three-year intermittency period, it is described as a slight enlargement of the RV (Richalet et al., 2002); and with 30 days of commuting, a rise in the PAPm at altitude -reversible at sea level (Sarybaev et al., 2003). Our results show a diagnosed PH (4% in the group), being a non expected higher prevalence when compared to the theoretical value in general population (0.02%) (Runo and Loyd, 2003). Also, as an issue to be considered further, we found other echocardiographic signs that suggest pulmonary hypertension: PAPm >20mm Hg at rest (12%), NPTI (48%), and RV thickness over 40 mm. (12%). Most of the subjects with higher levels of PAPm had less than 20 years at high altitude. Although these values were measured at sea level for logistic reasons and the lack of a control group may represent a weakness in our study, they do show an effect and if measured at altitude will probably be higher, as Sarybaev et al., 2003, outlined. The ranges of the PAP values found, seem to be equivalent to those described in similar altitudes (Hultgren et al., 1965) but lower than in higher altitudes (Peñaloza et al., 1963), yet some ethnic and individual differences may be involved (Sarybaev et al., 2003). Furthermore, the association of the elevated PAPm with triglycerides could be indicative of some contribution of the hypoxic condition as discussed before.

Therefore, this commuting system at high altitudes seems to have a remodelling or hypertensive effect into the pulmonary circulation of some subjects. Unfortunately, the timing of the study and the occupational conditions do not permit exploring if this effect is permanent or reversible. Finally, whether the responses described ultimately differ from those of permanent residents in high altitudes is a topic of an ongoing research.

Conclusions

This is a first comprehensive epidemiologic study of population working under a CIH commuting system for over 12 years at an altitude of 3550m (mostly >20 years). It is highlighted that in spite of the time elapsed, a great proportion of the population is acutely affected by hypoxia the first day, effect which is quickly compensated on Day 2, being a probable characteristic of this exposure model and may indicate some loss of peripheral chemosensitivity over time comparable to that of high altitude long term residents. Likewise, hematological parameters acquire an intermediate position compared to a chronic condition. The slight compromise of the renal function, the increase in triglycerides, and the presence of signs of PH turned out to be issues to be taken into account. Albeit the results of this study should be considered as preliminary results due to the lack of a control group, they contribute with additional information to build the "natural history" of this occupational condition. Also, echocardiography and renal function information in occupational health assessments, after a reasonable period of exposure at high altitude, may be important for the health management in this particular group.

Acknowledgments

We thank the Chilean army and all the volunteers for their unrestricted collaboration, Dr. Mario Gatica and Dr. Victor Criollo for their skilful cardiological assistance, and Master Sergeant Juan Delafuente for his invaluable work at field. This work was supported by grants from the Universidad Arturo Prat, Iquique, Chile and the Centro de Investigaciones del Hombre en el Desierto, Chile.

References

Anonymous. (1992). The Lake Louise Consensus on the definition and quantification of Altitude Illness. In: Hypoxia and mountain medicine. J. Sutton, G. Coates and C. Houston, eds. Queen City Press, Burlington, VT; pp. 327-330.

Beidleman BA., Muza SR., Fulco CS., Cymerman A., Ditzler D., Stulz D., Staab JE., Skrinar GS., Lewis SF., and Sawka MN. (2004). Intermittent altitude exposures reduce acute mountain sickness at 4300 m. *Clin Sci (Lond)*. 106:321-8.

Caceres J., Rojas M., Caceres L., and Ortiz J. (2004). Colesterol total y sus fracciones en adultos de 30 a 39 años, según género y sub-grupos de edad: Cusco. [in Spanish]. *Situa* 13:12- 19.

Cockcroft DW, Gault MH. (1976). Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*; 16:31-41

Ferezou J., Richalet JP., Coste T., and Rathat C. (1988). Changes in plasma lipids and lipoprotein cholesterol during a high altitude mountaineering expedition (4800 m). *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 57:740-5.

Hackett PH. (2003). Acute mountain sickness and high altitude cerebral edema: a review for the practitioner. In: *Health and Height. Proceedings of the 5th World Congress on Mountain Medicine and High Altitude Physiology*. G Viscor and A Ricart, eds. Universitat de Barcelona. Spain; pp. 9–22.

Heinicke K., Prommer N., Cajigal J., Viola T., Behn C., and Schmidt W. (2003). Long-term exposure to intermittent hypoxia results in increased hemoglobin mass, reduced plasma volume, and elevated erythropoietin plasma levels in man. *Eur J Appl Physiol*. 88:535-43.

Hultgren HN., Kelly J., and Miller H. (1965). Pulmonary circulation in acclimatized man at high altitude. *J Appl Physiol*. 20:233-238.

Kitabatake A, Inoue M, Asao M, Masuyama T, Tanouchi J, Morita T, Mishima M, Uematsu M, Shimazu T, Horii M, Abe H. (1983). Noninvasive evaluation of pulmonary hypertension by a pulsed Doppler technique. *Circulation*. 68:302-9.

Leon-Velarde F., Maggiorini M., Reeves JT., Aldashev A., Asmus I., Bernardi L., Ge RL., Hackett P., Kobayashi T., Moore LG., Penalzoza D., Richalet JP., Roach R., Wu T., Vargas E., Zubieta-Castillo G., and Zubieta-Calleja G. (2005). Consensus statement on chronic and subacute high altitude diseases. *High Alt Med Biol*. 6:147-57.

Li J., Bosch-Marce M., Nanayakkara A., Savransky V., Fried SK., Semenza GL., and Polotsky VY. (2006). Altered metabolic responses to intermittent hypoxia in mice with partial deficiency of hypoxia-inducible factor-1alpha. *Physiol Genomics*. 25:450-7.

McGoon M., Guterman D., Steen V., Barst R., McCrory DC., Fortin TA., and Loyd JE. (2004). Screening, early detection, and diagnosis of pulmonary arterial hypertension: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 126:14-34.

McLaughlin VV. (2004). Classification and epidemiology of pulmonary hypertension. *Cardiol Clin*. 22:327-41.

Ministerio de Salud de Chile (MINSAL). (2003) Encuesta Calidad de Vida [Health National Survey. [in Spanish]. MINSAL Eds., Santiago, Chile.

Monge C. and Leon Velarde F. (2003). El reto fisiológico de vivir en los Andes [in Spanish]. Universidad Peruana Cayetano Heredia Press, Lima, Perú.

Murray RK.; Granner DK.; Mayes PA., and Rodwell VW. (2003). Oxidation of Fatty Acids: Ketogenesis. In: *Harper's Illustrated Biochemistry (26th Edition)*. Murray RK.; Granner DK.; Mayes P A., and Rodwell VW., eds. McGraw-Hill, NY; pp. 180 -190.

Peñaloza D., Sime F., Bancharo N., Gamboa R., Cruz J., and Marticorena E. (1963). Pulmonary hypertension in healthy men born and living at high altitudes. *Am J Cardiol*. 11:150–157.

Powell FL., and Garcia N. (2000). Physiological effects of intermittent hypoxia. *High Alt Med Biol*. 1:125-36.

Prabhakar NR, Kline DD. (2002). Ventilatory changes during intermittent hypoxia: importance of pattern and duration. *High Alt Med Biol*. 3:195-204.

Richalet JP., Donoso MV., Jimenez D., Antezana AM., Hudson C., Cortes G., Osorio J., and Leon A. (2002). Chilean miners commuting from sea level to 4500 m: a prospective study. *High Alt Med Biol*. 3:159-66.

Runo JR. and Loyd JE. (2003). Primary pulmonary hypertension. *Lancet*. 361:1533-44.

Sarybaev AS., Palasiewicz G., Usupbaeva DA., Plywaczewski R., Maripov AM., Sydykov AS., Mirrakhimov MM., Le Roux H., Kadrov T., and Zielinski J. (2003). Effects of intermittent exposure to high altitude on pulmonary hemodynamics: a prospective study. *High Alt Med Biol*. 4:455-63.

Siques P., Brito J., Leon-Velarde F., Barrios L., Cruz JJ., Lopez V., and Herruzo R. (2006). Time course of cardiovascular and hematological responses in rats exposed to chronic intermittent hypobaric hypoxia (4600 m). *High Alt Med Biol*. 7:72-80.

Tin'kov AN. and Aksenov VA. (2002). Effects of intermittent hypobaric hypoxia on blood lipid concentrations in male coronary heart disease patients. *High Alt Med Biol*. 3:277-82.

Weil JV. (2004). Sleep at high altitude. *High Alt Med Biol*. 5:180-9.

Wilson PW., D'Agostino RB., Levy D., Belanger AM., Silbershatz H., and Kannel WB. (1998). Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation*. 97:1837-47.

Table 1: General characteristics of the studied group: Age (years). body mass index (BMI, kg/m²), years at altitude and smoking status (Yes/No). Values are mean \pm SD; proportion (%).

	$\bar{X} \pm SD$	Range	(%)
Age	48.7 \pm 2.0	<45 45-50 >50	2 78 20
BMI	26.3 \pm 2.3	20-24 25-29 30-34	34 58 8
Years at Altitude	22.1 \pm 5.8	13-14 15-25 >25	12 38 50
Smoker		Yes No	52 48

Table 2: Systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), heart rate (HR) and arterial oxygen saturation (Sa O₂), at SL and at Days 1 and 4 at altitude. Values are means \pm standard error (SE) and p-value (p).

	SL ($\bar{X} \pm SE$) (1)	Altitude D 1 ($\bar{X} \pm SE$) (2)	Altitude D 4 ($\bar{X} \pm SE$) (3)
SBP (mmHg).	122.1 \pm 1.2 <i>p</i> (1-3) NS	127.1 \pm 1.8 <i>p</i> (1-2) <0.001	122.9 \pm 1.3 <i>p</i> (2-3) <0.001
DBP (mmHg).	79.0 \pm 0.9 <i>p</i> (1-3) NS	83.8 \pm 1.3 <i>p</i> (1-2) <0.001	78.1 \pm 0.9 <i>p</i> (2-3) <0.001
HR (beats/min)	79.8 \pm 0.3 <i>p</i> (1-3) <0.001	82.6 \pm 0.4 <i>p</i> (1-2) <0.001	81.2 \pm 0.3 <i>p</i> (2-3) <0.001
SaO₂ (%)	99.8 \pm 0.08 <i>p</i> (1-3) <0.001	92.8 \pm 0.6 <i>p</i> (1-2) <0.001	96.6 \pm 0.5 <i>p</i> (2-3) <0.001

Table 3: Main echocardiographical findings: mean pulmonary artery pressure, mmHg (PAPm); nonphysiological tricuspid insufficiency presence (NPTI), right ventricle thickness, mm (RVT), and pulmonary hypertension presence (PH), Total subjects N=50. Values are number of subject with the attributes (n) and proportion (%).

Measures	n (%)
PAPm > 20 mmHg	6 (12%)
RVT \geq 40 mm	6 (12%)
NPTI	24 (48%)
PH	2 (4%)

Table 4: Hematological and biochemical measurements: Hematocrit (Hct), hemoglobin concentration (Hb), leukocytes count, total-cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides, cholesterol/HDL ratio, plasma creatinine, creatinine clearance, Framingham score; values are means \pm SD.

	$\bar{X} \pm SD$
Hct (%)	45.02 \pm 2.7
HB (g/dl)	15.1 \pm 1.0
Leukocytes (per mm ³)	7480 \pm 1848
Total-cholesterol (mg/dl)	191.3 \pm 39.3
HDL-cholesterol (mg/dl)	40.2 \pm 6.7
LDL-cholesterol (mg/dl)	109.6 \pm 26.9
Triglycerides (mg/dl)	238.0 \pm 162.8
Chol/HDL	4.8 \pm 1.0
Creatinine (mg/dl)	1.1 \pm 0.1
Creatinine Clearance (ml/min)	96.8 \pm 19.8
Framingham (points)	4.6 \pm 1.2

Fig. 1: Comparison of proportions (%) of headache and sleeping disturbances at altitude and sea level on Days 1, 2, and last day (day 4 at altitude, and day 3 at SL).

