



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**Efecto de la reactividad vascular en aorta de
rata Wistar macho y hembra en condiciones de
hipoxia**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA**

PRESENTA

RAFAEL CAMACHO MARTÍNEZ

ASESORA: Dra. Jazmín Flores Monroy

COASESORA: M. en C. Diana Ramírez Hernández

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**



**UNAM
CUAUTITLÁN**

**DEPARTAMENTO
DE TITULACIÓN**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: DRA. MARÍA DEL CARMEN VALDERAMA BRUNO
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de tesis y examen profesional**

Efecto de la reactividad vascular en aorta de rata Wistar macho y hembra en condiciones de hipoxia.

Que presenta el pasante: **Rafael Camacho Martínez**

Con número de cuenta: **313047738** para obtener el título de: **Licenciado en Bioquímica Diagnóstica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 07 de Febrero de 2023.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en F.C. Beatriz de Jesús Maya Monroy	
VOCAL	Dra. Jazmin Flores Monroy	
SECRETARIO	M. en E. María Verónica Vázquez Cianca	
1er. SUPLENTE	L.F. Miguel Angel Trejo Rodriguez	Trejo Rodriguez, Miguel A.
2do. SUPLENTE	Dr. Diego Lezama Martinez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional

MCVB/cga*

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, específicamente a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, por estos años llenos de aprendizajes y cuya cúspide final es la realización del presente trabajo.

Al laboratorio de Farmacología del Miocardio, personalmente a la Dra. Jazmín y a la Mtra. Diana, por aceptarme dentro de su protocolo y brindarme todas las herramientas necesarias para el desarrollo experimental del mismo. De igual manera, agradezco profundamente a los proyectos CI2211 FES Cuautitlán, PAPIIT IN2022, PAPIIT IN217122 y CONACYT A1-S8958, los cuales brindan apoyo al laboratorio y permiten que éste funcione en pro de la Facultad y su alumnado.

A la carrera Bioquímica Diagnóstica, englobando a todos los profesores y compañeros que directa o indirectamente me brindaron conocimientos, experiencias y apoyo a lo largo de los semestres.

DEDICATORIAS

A mis más grandes héroes, mis modelos y los pilares más importantes, Rafa y Lupe, por todo su esfuerzo diario, su aguante, su apoyo los 365 días del año y, sobre todo, por el amor incondicional que me han otorgado desde que tengo memoria, demostrándome que pase lo que pase, la vida está para ser vivida con felicidad. Crean cuando les digo que soy la persona más feliz del mundo por el mero hecho de ser su hijo. Los amo con todo mi ser.

A Chucho y a Vicky, mis grandes compañeros de vida y los mejores amigos que Dios y el universo me pudieron haber otorgado, por llegar a lo profundo de mi corazón cada vez que los veo y abrazo, ya que soy la persona que soy gracias a ustedes. Gracias por impregnarme su asombrosa capacidad de siempre ir hacia adelante, demostrando que no existen imposibles mientras uno se proponga a realizarlo.

A Pau, Milton, Isra, Diego, Odín y Gaby, por iluminar todo mi camino con sus historias, su entusiasmo, sus sonrisas y con su enorme corazón, siempre estando ahí para mí. Mi mundo se fue pintando de colores conforme llegaron a él y si tuviera que escoger, los escogería de nuevo mil veces a todos ustedes, ya que no hay nadie que se les compare.

A Fati, por ser lo más extraordinario e increíble que la carrera me pudo haber dado. Decir que fuiste la pieza clave se quedaría corto, ya que desde entonces y hasta ahora sigues siendo mi mejor maestra, amiga, compañera de equipo y respaldo en absolutamente todo. Nada de esto sería posible sin ti y tu magnífica forma de ser y pensar. Tu esfuerzo, tu capacidad y tu gran cariño me hicieron una mejor persona y eso es algo de lo que te estaré eternamente agradecido.

A Gordo, por demostrarme que el amor y la lealtad a veces pueden llegar de imprevisto y teniendo formas variadas y muy peculiares. Si alguien trasnochó, me aguantó, resistió todo y permaneció a mi lado 24/7 fuiste tú, siendo el que me enseña y repite día con día que jugar, descansar y el ser amigable y optimista con el mundo son esenciales para vivir plenamente.

A la Doctora Jaz, por siempre estar ahí cuando lo necesité, por las charlas amenas, consejos, enseñanzas, correcciones y por otorgarme su total confianza desde el primer día que la conocí. Además, por ser una extraordinaria persona en todos los ámbitos, con una calidad humana

tremenda, motivándome y dándome el mensaje de nunca bajar los brazos, todo esto siempre con una sonrisa en el rostro. Todos necesitamos a una Dra. Jaz en nuestras vidas.

A la Maestra Diana, por invitarme y darme ésta oportunidad única, marcando un antes y un después en mi camino. Su confianza y su gran apoyo en muchas instancias fueron la base de todo lo que vino posteriormente.

Y a todos los animalitos que dieron valientemente su vida en este protocolo. Que sepan que su existencia no fue anónima ni mucho menos en vano. Mención honorífica a mi querido Schaeffer/Amigochis, por abrir mi corazón y enseñarme que toda vida, por más pequeña que sea, merece ser tratada con cariño, respeto y dignidad.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	8
ÍNDICE DE TABLAS.....	9
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	9
ABREVIATURAS.....	10
INTRODUCCIÓN	13
MARCO TEÓRICO	14
1. Oxígeno en la aparición de vida terrestre	14
1.1 Gran Evento de Oxidación	15
1.2 Rol e importancia dentro de la evolución aerobia	16
1.2.1 Efectos dañinos causados por oxígeno	17
2. Respiración celular y características importantes	19
2.1 La mitocondria, el organelo clave	20
2.1.1 Origen ancestral de la mitocondria	21
2.2 Principales reacciones catabólicas aerobias y su ubicación celular	21
2.2.1 La glucólisis y su ruta universal.....	22
2.2.2 Descarboxilación oxidativa.....	25
2.2.3 La activación de ácidos grasos.....	26
2.2.4 La β -oxidación	27
2.2.5 Catabolismo proteico	29
2.2.6 Ciclo de Krebs.....	31
2.2.7 Cadena respiratoria y fosforilación oxidativa	33
2.3 Balance energético neto.....	35
2.4 Enfermedades mitocondriales.....	37
3. Aparato respiratorio	38
3.1 Ventilación pulmonar	41
3.1.1 Regulación	43
3.2 Hematosis	48
3.2.1 Circulación menor.....	49

3.3 Transporte de gases	50
3.3.1 Hemoglobina.....	51
3.3.2 Transporte de oxígeno.....	52
3.3.3 Transporte de dióxido de carbono.....	54
3.3.4 Intercambio gaseoso a nivel tisular.....	55
3.3.5 Intercambio gaseoso a nivel alveolar	57
4. Hipoxia	58
4.1 Alteraciones celulares inducidas por hipoxia	59
4.2 Adaptación celular hacia la hipoxia.....	61
4.2.1 Factores inducibles por hipoxia (HIF)	62
5. Músculo liso vascular	65
5.1 Contracción-Relajación	65
5.2 Señales que influyen en el músculo liso vascular.....	67
5.2.1 Regulación del músculo liso vascular.....	68
5.3 Efecto de la hipoxia en el músculo liso vascular.....	71
5.3.1 Efectos sobre la contracción muscular.....	72
5.3.2 Efectos sobre la proliferación celular	73
6. Modelos farmacológicos para evaluar la fisiología muscular	75
6.1 Modelo <i>in vitro</i> de anillo de aorta	75
6.2 Cámara de órgano aislado.....	79
OBJETIVO GENERAL	84
OBJETIVOS PARTICULARES	84
HIPÓTESIS	84
METODOLOGÍA	85
RESULTADOS	89
ANÁLISIS DE RESULTADOS	92
CONCLUSIONES.....	99
REFERENCIAS	100

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Historia natural del oxígeno terrestre, abarcando desde su presencia en la formación de océanos primitivos hasta el Gran Evento de Oxidación	16
Figura 2. Especies Reactivas de Oxígeno y su participación en el estrés oxidativo	19
Figura 3. Estructura interna mitocondrial	20
Figura 4. Reacciones de la glucólisis	23
Figura 5. Descarboxilación oxidativa	26
Figura 6. Pasos de la activación de ácidos grasos	27
Figura 7. β -oxidación de ácidos grasos	28
Figura 8. Ejemplo de transaminación con α -cetoglutarato	29
Figura 9. Ciclo de Krebs	32
Figura 10. Cadena de transporte de electrones y fosforilación oxidativa	35
Figura 11. Estructuras anatómicas de las distintas porciones del aparato respiratorio	40
Figura 12. Procesos de la ventilación pulmonar	42
Figura 13. Quimiorreceptores que participan en la regulación ventilatoria	45
Figura 14. Mecanismos nerviosos reguladores de la ventilación	47
Figura 15. Intercambio gaseoso entre el O_2 y el CO_2 en la membrana alveolocapilar	48
Figura 16. Circulación menor y su participación en el intercambio gaseoso	50
Figura 17. Estructura de la hemoglobina y de sus grupos hem	52
Figura 18. Curva de disociación de la hemoglobina	54
Figura 19. Intercambio gaseoso a nivel tisular	56
Figura 20. Intercambio gaseoso a nivel alveolar	58
Figura 21. Mecanismos puntuales de la muerte celular inducida por hipoxia	60
Figura 22. Adaptaciones del organismo frente a la hipoxia	62
Figura 23. Interacciones de HIF-1 α en condiciones normóxicas e hipóxicas	64
Figura 24. Mecanismo de contracción en el músculo liso vascular	66
Figura 25. Influencia de los receptores acoplados a proteínas G en el mecanismo contráctil del músculo liso vascular	69
Figura 26. Adaptación celular hacia la hipoxia mediada por HIF-1 α	71
Figura 27. Regulación de los KATP	73
Figura 28. Efectos de miR-210 y miR-1260b	74
Figura 29. Esquemmatización de los pasos del modelo <i>in vitro</i> de anillo de aorta	78

Figura 30. Esquematización de un baño de órganos con un anillo de aorta	83
Figura 31. Equipo de baño de órganos del Laboratorio de Farmacología del Miocardio.....	85
Figura 32. Termo-circulador LabTech del Laboratorio de Farmacología del Miocardio.....	86
Figura 33. Transductor MP100A-CE de la marca BIOPAC Systems del Laboratorio de Farmacología del Miocardio.....	87
Figura 34. Cámara de órgano aislado con anillo aórtico.....	87

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Rutas metabólicas de la respiración aerobia y su ubicación celular	22
Tabla 2. Destinos catabólicos de los distintos aminoácidos.....	30
Tabla 3. Complejos proteicos de la cadena respiratoria y fosforilación oxidativa.....	33
Tabla 4. Rendimiento energético por molécula de glucosa	36
Tabla 5. Ejemplos de enfermedades mitocondriales.....	38
Tabla 6. Porciones respiratorias y sus respectivas funciones.....	39
Tabla 7. Comparativa de las propiedades entre los tipos musculares	67
Tabla 8. Sustancias endógenas vasoactivas y sus receptores en las CMLV	70
Tabla 9. Ejemplos de tejidos en donde se ha utilizado el baño de órganos y su utilidad.....	82
Tabla 10. Composición de la solución Krebs-Hanseleit modificada	83
Tabla 11. Concentración efectiva 50 (CE50) de los agonistas angiotensina II y fenilefrina en función de los cuatro lotes de experimentación.....	92
Tabla 12. Diferencias encontradas en la reactividad vascular mediada por Angiotensina II y Fenilefrina al compararse los cuatro lotes de experimentación.....	98

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Curvas concentración-respuesta a concentraciones crecientes de angiotensina II (A) y fenilefrina (B) sobre preparados normóxicos de anillos aórticos de ratas Wistar macho y hembra.....	90
Gráfica 2. Curvas concentración-respuesta a concentraciones crecientes de angiotensina II (A) y fenilefrina (B) sobre preparados hipóxicos de anillos aórticos de ratas Wistar macho y hembra.	90
Gráfica 3. Curvas concentración-respuesta a concentraciones crecientes de angiotensina II sobre preparados normóxicos e hipóxicos de anillos de aorta de ratas Wistar macho (A) y hembra (B).	91
Gráfica 4. Curvas concentración-respuesta a concentraciones crecientes de fenilefrina sobre preparados normóxicos e hipóxicos de anillos de aorta de ratas Wistar macho (A) y hembra (B).	91

ABREVIATURAS

2,3-DPG. 2,3-Difosfoglicerato	COVID-19. Enfermedad por Coronavirus de 2019
AC. Anhidrasa Carbónica	Cu. Cobre
ADP. Adenosín Difosfato	DAG. Diacilglicerol
AE1. Intercambiador Aniónico 1	DHAP. Dihidroxiacetona-fosfato
AMP. Adenosín Monofosfato	DNA. Ácido Desoxirribonucleico
AMPc. Adenosín Monofosfato Cíclico	e⁻. Electrón
Ang II. Angiotensina II	E1. Piruvato Deshidrogenasa
ARNT. Translocador Nuclear del Receptor de Aril hidrocarburo	E2. Dihidrolipoil Transacetilasa
AT₁. Receptor de angiotensina II tipo 1	E3. Dihidrolipoil Deshidrogenasa
ATP. Adenosín Trifosfato	ECA. Enzima Convertidora de Angiotensina
BNIP3. Proteína 3 de Interacción con Proteína 2 de Linfoma de Células B	EDCF₁. Factor 1 de Constricción Derivado de Endotelio
BNIP3L. Proteína Similar 3 de Interacción con Proteína 2 de Linfoma de Células B	EDHF. Factor Hiperpolarizador Derivado del Endotelio
Ca²⁺. Ion Calcio	EFNA3. Efrina-A3
CaCl₂. Cloruro de Calcio	EM. Enfermedad Mitocondrial
CaM. Calcio-Calmodulina	EPOC. Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica
CaO₂. Contenido arterial de Oxígeno	ERO. Especies Reactivas de Oxígeno
CBP. Proteína de Unión a CREB	ETF. Flavoproteína Transportadora de Electrones
CE₅₀. Concentración Efectiva 50	F6P. Fructosa-6-fosfato
Cl⁻. Ion Cloruro	FAD. Dinucleótido de Flavina y Adenina oxidado
CMLV. Células de Músculo Liso Vascular	FADH₂. Dinucleótido de Flavina y Adenina reducido
CO. Monóxido de Carbono	Fe. Hierro
CO₂. Dióxido de Carbono	
CoA/CoA-SH. Coenzima-A	

FIH. Factor Inhibidor de Factores Inducibles por Hipoxia

FMN. Mononucleótido de Flavina

FRDA. Ataxia de Friedreich

g. Gramos

G3P. Gliceraldehído-3-fosfato

G6P. Glucosa-6-fosfato

GDF11. Factor Diferenciador de Crecimiento 11

GLUT. Transportador de Glucosa

GMP. Guanosín Monofosfato

GMPc. Guanosín Monofosfato cíclico

GPD1L. Glicerol-3-fosfato Deshidrogenasa Similar 1

GRD. Grupo Respiratorio Dorsal

GRV. Grupo Respiratorio Ventral

GTP. Guanosín Trifosfato

H⁺. Ion Hidrógeno

H₂CO₃. Ácido Carbónico

H₂O. Agua

H₂O₂. Peróxido de Hidrógeno

HCO₃⁻. Ion Bicarbonato

Hb. Hemoglobina

HbA1c. Hemoglobina Glicosilada

Hb-O₂. Oxihemoglobina

Hb-CO₂. Carbaminohemoglobina

HIF. Factores Inducibles por Hipoxia

HO[•]. Ion Hidroxilo

HOO[•]. Ion Hidroperóxido

HRE. Elementos de Respuesta a la Hipoxia

IL1A. Gen de Interleucina 1 alfa

IP₃. Inositol Trifosfato

K⁺. Ion Potasio

KATP. Canales de Potasio sensibles a ATP

KCl. Cloruro de Potasio

KH₂PO₄. Fosfato Monopotásico

L. Litro

LCR. Líquido Cefalorraquídeo

LEP. Leptina

Leu. Leucina

Log. Logaritmo

Lys. Lisina

M. Molar

mL. Mililitro

mM. Milimolar

MEF2C. Factor Potenciador Específico de Miocito 2C

MELAS. Encefalomiopatía y Acidosis Láctica con Accidente Cerebro Vascular

MERRF. Epilepsia Mioclónica asociada a Fibras Rojas Rotas

mg. Miligramos

MgSO₄. Sulfato de Magnesio

microRNA/miRs. Micro Ácido Ribonucleico

MLC. Cadenas Ligeras de Miosina

MLCK. Cadena Ligera de Miosina Cinasa

MLCP. Cadena Ligera de Miosina Fosfatasa

mmHg. Milímetros de Mercurio

mmol. Milimol

MPT. Poro de Permeabilidad Mitocondrial

mRNA. Ácido Ribonucleico mensajero

mtDNA. Ácido Desoxirribonucleico mitocondrial

Na⁺. Ion Sodio

NaCl. Cloruro de Sodio

NaHCO₃. Bicarbonato de Sodio

NCX. Intercambiador Sodio/Calcio

NAD⁺. Dinucleótido de Nicotinamida y Adenina oxidado

NADH. Dinucleótido de Nicotinamida y Adenina reducido

NADP⁺. Dinucleótido de Nicotinamida y Adenina fosfato oxidado

NADPH. Dinucleótido de Nicotinamida y Adenina fosfato reducido

NF-κB. Factor Nuclear Potenciador de las Cadenas Ligeras Kappa de las Células B activadas

NH₃. Amoníaco

NHE1. Isoforma 1 del Intercambiador Sodio/Hidrógeno

NO. Óxido Nítrico

O₂. Oxígeno Molecular/Diatómico

O₂⁻. Ion Superóxido

O₃. Ozono

P. Grupo Fosfato

p38 MAPK. Proteína Cinasa Activada por Mitógeno p38

p300. Coactivador Transcripcional Histona Acetiltransferasa

pCO₂. Presión parcial de Dióxido de Carbono

PHD. Prolilhidroxilasa

PKA. Proteína Cinasa A

PKC. Proteína Cinasa C

PKG. Proteína Cinasa G

pre-BÖTC. Complejo pre-Bötzing

pO₂. Presión parcial de Oxígeno

PTP1B. Proteína Tirosina Fosfatasa 1B

pVHL. Proteína Supresora de Tumores von Hippel-Lindau

R. Configuración Relajada

ROC. Ras de Proteínas Complejas

S. Azufre

SDHD. Subunidad D del Complejo Succinato Deshidrogenasa

SGLT. Transportadores de Glucosa Acoplados a Sodio

SKS. Síndrome de Kearns-Sayre

SNS. Sistema Nervioso Simpático

sO₂. Saturación de Hemoglobina

s/O₂. Hipóxicos/hipóxicas

T. Configuración Tensa

TAG. Triacilglicéridos

TNFα. Factor de Necrosis Tumoral alfa

TPP. Pirofosfato de Tiamina

tRNA. Ácido Ribonucleico de transferencia

Ub. Ubiquitina

VEGF. Factor de Crecimiento Endotelial Vascular

INTRODUCCIÓN

Hoy en día se sabe que el fenómeno de hipoxia, el cual es una disminución del oxígeno a nivel tisular (Bhutta et al., 2022), puede ser causado por una amplia gama de patologías relacionadas al sistema cardíaco y/o respiratorio, en donde se encuentran afecciones tales como la fibrosis pulmonar, la bronquitis, el asma, la EPOC, el infarto, la insuficiencia cardíaca y más recientemente, la COVID-19 (Crosara, 2015; Pérez-Padilla et al., 2020). A pesar de que los efectos de la hipoxia en las células son muchos y muy variados, desafortunadamente han sido relacionados en la patogénesis de distintas y numerosas enfermedades con altas tasas de incidencia y mortalidad a nivel mundial que las convierten en problemas de salud pública, como lo son el cáncer, las enfermedades neurodegenerativas y las alteraciones metabólicas (Yeo, 2019; Chen et al., 2020). No obstante, a pesar del gran impacto que tiene la hipoxia sobre la salud humana, el efecto de la disminución de oxígeno a nivel vascular entre ambos géneros ha sido pobremente descrito. Aunque existen múltiples informes y artículos que versan sobre las diferencias en la contracción vascular de los vasos sanguíneos entre machos y hembras, siendo mayor en los primeros (Orshal y Khalil, 2014) debido posiblemente a mecanismos genómicos y no genómicos dados por receptores de estrógenos, progesterona o testosterona expresados en la musculatura lisa vascular (Mendelsohn, 2012; Wynne y Khalil, 2013), la mayoría de estos escritos se basan únicamente en condiciones normóxicas y no a las hipóxicas. Debido a esto, los mecanismos relacionados directamente al músculo liso vascular, como la regulación de la presión y el tono vascular, el aporte sanguíneo de los tejidos y la permeabilidad capilar (Aiello, 2018; Consolini y Ragone, 2017), siguen sin ser abordados en función a los bajos niveles de oxígeno y a las diferencias intrínsecas que existen entre ambos géneros. Es por ello que el presente trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto de la reactividad vascular en condiciones hipóxicas en ratas Wistar macho y hembra utilizando el modelo *in vitro* de anillo de aorta de rata Wistar, siendo ésta una metodología ideal ya que permite medir las respuestas contráctiles del músculo liso vascular que se generan por la adición de distintos agonistas en el tejido de interés, además de que se adapta fácilmente a variables experimentales como lo son el género del animal de laboratorio y los niveles de oxigenación (Albuquerque et al., 2016).

MARCO TEÓRICO

1. Oxígeno en la aparición de vida terrestre

El oxígeno es el tercer elemento gaseoso más abundante del universo, sólo por detrás del hidrógeno y del helio; se produce en el interior de las estrellas y es liberado al espacio interplanetario una vez que éstas explotan en forma de supernovas (Sousa y Viladomat, 2012). Pese a ello, la forma biológicamente importante del oxígeno, la diatómica u O_2 , es extremadamente rara en el cosmos debido a que la energía necesaria para la formación del enlace entre dos oxígenos monoatómicos es demasiado alta, por lo que dichos átomos aislados van a tender a asociarse con elementos del polvo estelar antes que con ellos mismos (Zahumenszky, 2015). Sin embargo, el planeta Tierra es una excepción a la premisa anterior, ya que actualmente el 21% de la composición total de la atmósfera terrestre consta de O_2 completamente respirable para los organismos aerobios (Camilloni y Vera, 2016). Adicionalmente, el oxígeno también participa en la formación del ozono (O_3), el cual funge como filtro de las radiaciones ultravioletas provenientes del sol y que son perjudiciales para el desarrollo de la vida (Santillán, 2021).

Mucho antes de su presencia atmosférica, ya sea de la forma diatómica o como ozono, cada átomo de oxígeno interactuó primeramente con dos átomos de hidrógeno para la generación de agua en el manto terrestre, creando así a los océanos prehistóricos (Fox, 2016). Fue en estos cuerpos de agua donde millones de años después y bajo condiciones climatológicas específicas, el oxígeno participó junto a otros elementos como lo son el carbono, nitrógeno, hidrógeno y fósforo (todos ellos catalogados bajo el término de “bioelementos”) para la generación de las primeras biomoléculas que subsecuentemente, serían la composición de las primeras formas de vida, apareciendo hace aproximadamente 3,500 millones de años (Universidad Nacional del Litoral, 2018; Espinoza et al., 2014). Cabe mencionar que estos microorganismos primitivos captarían la energía lumínica del sol para generar energía química, pero sin producir oxígeno como residuo de ese metabolismo (llamado fotosíntesis anoxigénica), en el cual las bacterias acoplan en su membrana el cambio cuántico de los electrones de sus pigmentos, llamados colectivamente como bacterioclorofilas (Ort et al., 2015). Los pigmentos son estimulados por la luz y esta energía lumínica es utilizada para construir moléculas orgánicas a partir del CO_2 presente en la atmósfera (Ort et al., 2015; Sousa y Viladomat, 2012).

1.1 Gran Evento de Oxidación

No fue hasta la llegada del género bacteriano de las *Cianobacterias* donde hubo una transición entre el empleo de la fotosíntesis anoxigénica a una oxigénica, transformando la energía lumínica del sol en energía química, el carbono inorgánico del CO₂ atmosférico a carbonos orgánicos (azúcares) y obteniendo como subproducto al O₂ al disociar las moléculas de agua (la cual actúa como donante primario de electrones), todo gracias a pigmentos como la clorofila (Tiano, 2017). Paralelamente, las bacterias no oxigénicas que convivían en los alrededores con las *Cianobacterias* no fueron intoxicadas por el oxígeno liberado, debido a que las *Cianobacterias* proliferaban en las capas profundas de los tapetes microbianos acuáticos, lugar donde las cantidades de azufre presente permitían la formación de sulfatos al combinarse con oxígeno, los cuales sí eran bien tolerados por los demás tipos de microorganismos adyacentes (Sousa y Viladomat, 2012).

El oxígeno resultante del metabolismo oxigénico fue acumulándose burbuja por burbuja en los mantos oceánicos hasta que alrededor de 2,000 millones de años atrás, ocurrió un evento denominado como Gran Evento de Oxidación, en donde las concentraciones de O₂ atmosférico aumentaron hasta 100,000 veces más gracias al paso del oxígeno diatómico alojado en el agua hacia el aire, ocasionando que la atmósfera pasara de poseer un estado reducido a uno oxidado (Figura 1) (Espinoza et al., 2014; García-Carreño et al., 2016). Esto condujo a la extinción de alrededor del 80% de las especies biológicas, especialmente organismos anoxigénicos, debido a que fueron intoxicados por las Especies Reactivas de Oxígeno (ERO) que al estar en exceso y de manera abrupta en el ambiente, reaccionaron con las moléculas de tales organismos y las destruyeron (Sena y Chandel, 2012). En contraste, las especies sobrevivientes al Gran Evento de la Oxidación comenzaron a desarrollarse plenamente como organismos aerobios, debido en gran medida a que las *Cianobacterias* presentaron una endosimbiosis con células de algas y demás plantas marinas, en forma de organelos conocidos hoy en día como cloroplastos (Sousa y Viladomat, 2012). Actualmente, siguen existiendo *Cianobacterias* de vida libre en muchos ambientes y ecosistemas, particularmente en cuerpos de agua y líquenes microbianos, las cuales continúan suministrando grandes cantidades de oxígeno a la atmósfera (Ort et al. 2015).

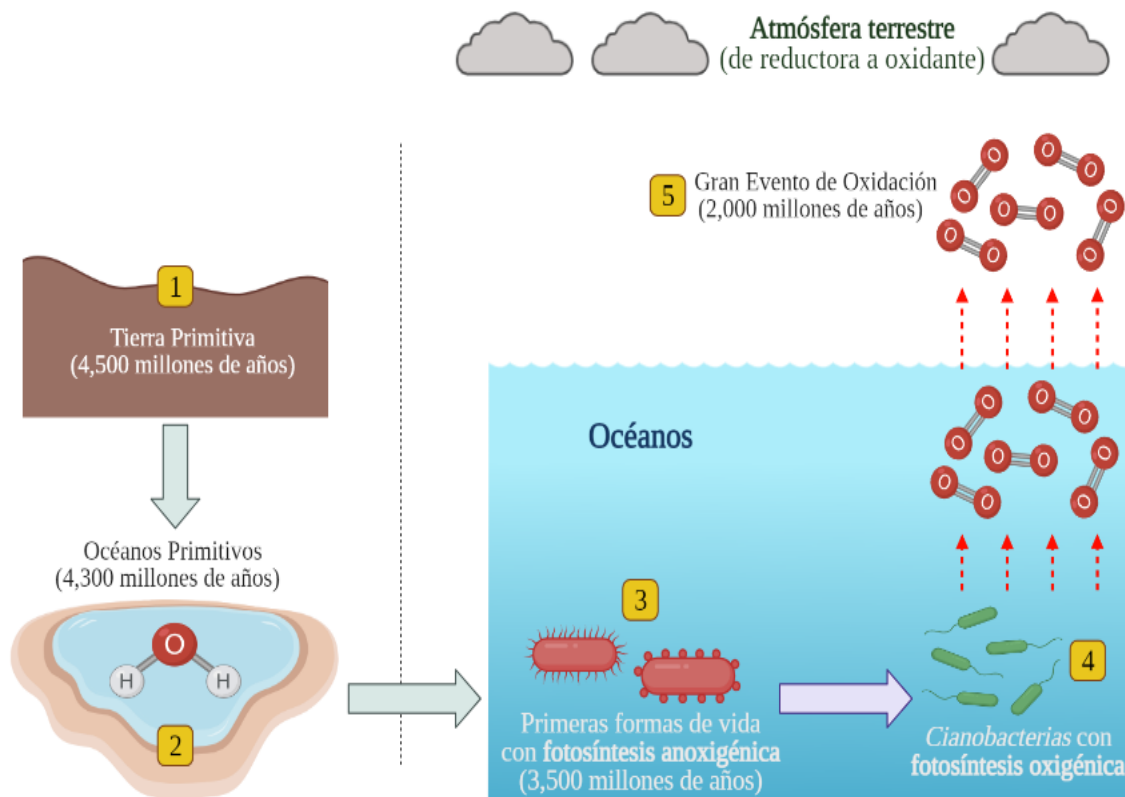


Figura 1. Historia natural del oxígeno terrestre, abarcando desde su presencia en la formación de océanos primitivos hasta el Gran Evento de Oxidación. Elaboración propia.

1.2 Rol e importancia dentro de la evolución aerobia

Este cambio en el uso de una respiración anaerobia a una de tipo aerobia permitió también un aumento bioenergético que propició la evolución y posterior aparición de organismos pluricelulares, los cuales posteriormente salieron de los mares y colonizaron tanto la tierra como el espacio aéreo del planeta (Fox, 2016). En condiciones de anaerobiosis, una molécula de glucosa es capaz únicamente de producir 2 moléculas de ATP en un proceso denominado glucólisis fermentativa; mientras que en la respiración aerobia se pueden ganar más de 30 moléculas de ATP gracias a procesos bioquímicos tales como el ciclo de Krebs, la fosforilación oxidativa o la cadena respiratoria donde el O_2 juega un rol clave al actuar como último aceptor de electrones. Se puede mencionar entonces que gracias al ambiente rico en oxígeno es que fue posible la aparición de nuevas formas de vida que fueron capaces de aprovechar esta mayor riqueza bioenergética, permitiendo la evolución de organismos multicelulares más complejos y mejor adaptados a su ambiente (Fox, 2016; Cruz, 2019).

Los organismos aerobios, incluido el humano, necesitan de tres componentes básicos para abastecer, mantener y producir energía para todos sus procesos y mecanismos bioquímicos vitales: 1) el aporte regular y sistemático de nutrientes contenidos en los distintos tipos de alimentos que conforman la dieta; 2) mecanismos enzimáticos catabólicos que degraden a los nutrimentos en moléculas más sencillas que puedan ser fácilmente absorbidas y utilizadas por el cuerpo; 3) la inhalación de oxígeno, el cual es respirado del ambiente gracias a su presencia originada por la fotosíntesis vegetal (Instituto de Enseñanzas a Distancia de Andalucía, 2010; Morales, 2013). Tanto los nutrimentos como los componentes enzimáticos bien pueden ser almacenados dentro del cuerpo para su posterior uso, aspecto que no ocurre con el O_2 al no contar con un reservorio endógeno natural (Crosara, 2015). Este hecho resalta la necesidad biológica de contar con una entrada continua y constante del oxígeno hacia los pulmones que garantice su renovación en todas las células corporales, posibilitando la respiración aerobia celular en cada una de ellas (Morales, 2013). Así, el carácter vital del oxígeno radica en que si se obstaculiza su entrada al organismo por demasiado tiempo, el resultado directo sería la muerte.

De esta forma, es importante recalcar que una disminución en la entrada de oxígeno al cuerpo, independientemente de la causa (anatómica, patológica o ambiental), ocasiona hipoxia, cuyo resultado inmediato es la insuficiencia bioenergética o hipoergosis (Morales, 2013), a raíz de que la respiración celular se ve interrumpida y las células comienzan a generar sólo 2 ATP gracias a la fermentación de la glucosa. Esta ruta metabólica alterna genera ácido láctico como subproducto, ocasionando una acidificación del medio que modifica las condiciones enzimáticas celulares, mermando sus actividades óptimas debido al cambio de pH en el entorno. De esta forma, la acidosis láctica es una condición propia de la hipoxia (Crosara, 2015), la cual puede ocasionar la muerte del individuo si se prolonga demasiado tiempo.

1.2.1 Efectos dañinos causados por oxígeno

Otro aspecto importante sobre el metabolismo aerobio es que durante la respiración, se generan especies químicas llamadas radicales libres que poseen electrones desapareados que reaccionan inespecíficamente con el oxígeno del medio y generan a las ERO (Maldonado et al., 2010; Espinoza et al., 2014). Las principales ERO son el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y los iones superóxido (O_2^-), hidroperóxido (HOO^-) e hidroxilo (HO^-), los cuales son capaces de interactuar con las proteínas (carbonilando, nitrando y glutatiónándolas), con los lípidos (formando

malondialdehído y 4-hidroxinonenal) y con el DNA (oxidando sus bases, produciendo 8-hidroxi-guanosina). Estas modificaciones por lo general conllevan a la eventual muerte celular (Espinoza et al., 2014).

1.2.1.1 Sistemas antioxidantes

Para evitar el daño causado por las ERO, los organismos aerobios han desarrollado a lo largo de su evolución, sistemas de control para equilibrar su producción, conociéndose como sistemas antioxidantes (Birben et al., 2012). Un antioxidante es un compuesto que previene el daño celular gracias a que estabilizan a los radicales libres, actuando como donadores de electrones hacia las moléculas con electrones desapareados antes de que éstas traten de recuperar el electrón perdido y lo tomen de otras moléculas funcionales, al mismo tiempo que dicho antioxidante se mantiene estable sin provocar ningún tipo de daño una vez que dona un electrón propio. En adición, los antioxidantes se clasifican en:

- 1) Endógenos: abarcando a todos los complejos enzimáticos propios del organismo como la superóxido dismutasa, la catalasa o el sistema de la glutatión-peroxidasa reductasa.
- 2) Exógenos: aquellos adquiridos en la dieta, principalmente consumiendo productos de origen natural como frutas y verduras.

Ambos tipos de antioxidantes son partícipes defensivos del equilibrio oxidante/antioxidante que se tiene en función de las ERO. (Espinoza et al., 2014) Sin embargo, si se rompe este equilibrio a raíz de un desperfecto y/o insuficiencia de los mecanismos antioxidantes con los que cuenta el cuerpo, se presenta algo denominado estrés oxidativo (Navarro, 2016). Los efectos del estrés oxidativo, entre otras cosas, abarcan daños celulares y fisiológicos severos (Figura 2), relacionándose ampliamente con enfermedades como Parkinson, Alzheimer, hipertensión, autoinmunidades, cáncer, diabetes, retinosis, ataxia, hepatopatías, nefropatías, neuropatías, inmunodeficiencias y envejecimiento prematuro (Navarro, 2016).

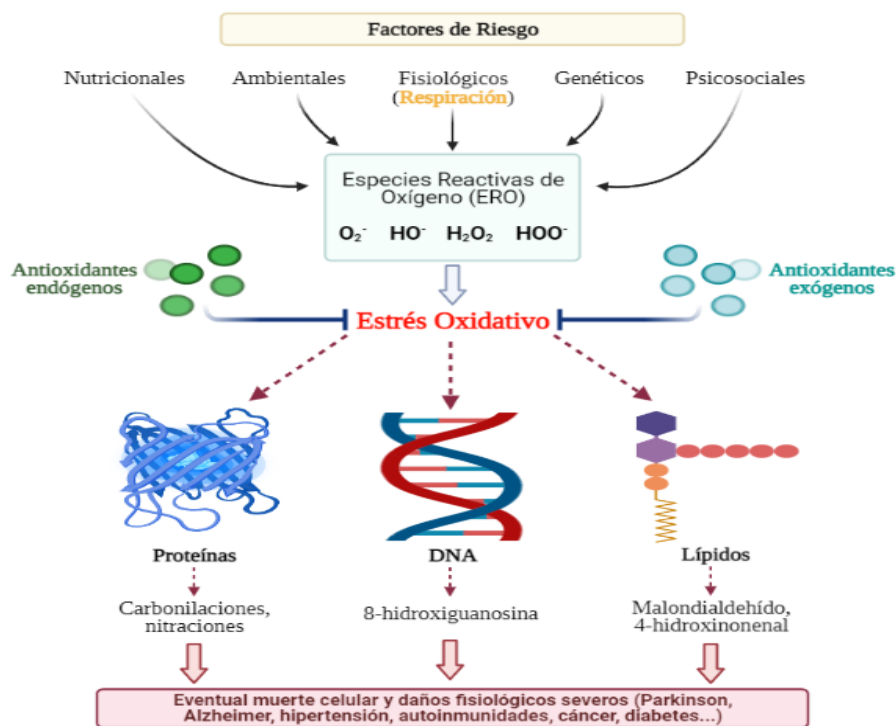


Figura 2. Especies Reactivas de Oxígeno y su participación en el estrés oxidativo. Modificado de “Generación de especies reactivas de oxígeno y consecuencias del rompimiento del balance oxidante-antioxidante, observadas como alteraciones metabólicas” por Navarro, L. G., Ramírez, A., y Conde, J., 2016, *Oxígeno bueno, oxígeno malo y antioxidantes*. https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/images/revista/67_2/PDF/OxigenoBueno.pdf

2. Respiración celular y características importantes

Conocida también como metabolismo energético, la respiración celular es el conjunto de rutas metabólicas y reacciones bioquímicas que tienen como objetivo generar energía química en forma de ATP (Koolman y Röhm, 2012). A diferencia de las plantas, los animales eucariotas (incluido el humano) son organismos quimioheterótrofos que dependen completamente de su dieta para ingerir componentes orgánicos, los cuales posteriormente son degradados en procesos catabólicos oxidativos para generar el ATP que es ocupado como agente de fosforilación, transporte activo, plegamiento de proteínas, mantenimiento de gradientes iónicos y transducción mecánica a través de cambios conformacionales en proteínas, entre otros mecanismos endergónicos (Rosas et al., 2010). Es importante recalcar que el oxígeno molecular (O_2) tiene un rol fundamental dentro de la respiración celular debido a que su presencia o ausencia es lo que va a determinar qué moléculas van a poder ser degradadas ya sea en aerobiosis o anaerobiosis (Koolman y Röhm, 2012).

2.1 La mitocondria, el organelo clave

La síntesis de ATP tiene lugar en organelos conocidos como mitocondrias, presentes en todos los tipos celulares y abarcando aproximadamente un 20% del volumen celular total. Aunque cuentan con formas variadas (como redondas, alargadas o ramificadas), generalmente se representan de manera abastionada con dimensiones de $0.5\mu\text{m}$ de diámetro y hasta $7\mu\text{m}$ de longitud (Brusco, 2011); mientras que estructuralmente poseen dos membranas que las subdividen en cuatro compartimientos distintos (Figura 3): una membrana externa, una membrana interna, el espacio intermembrana y la matriz mitocondrial (De la Fuente, 2018).

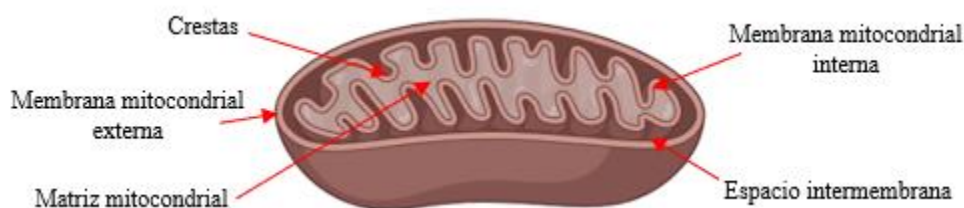


Figura 3. Estructura interna mitocondrial. Elaboración propia.

La membrana externa permite el paso de la mayoría de las moléculas pequeñas, mientras que la membrana interna es únicamente permeable para ciertas moléculas como lo son el ácido pirúvico y el ATP, siendo justamente esta selectividad tan alta la que capacita a las mitocondrias para destinar la energía proveniente de la respiración para la producción neta de ATP (Universidad Nacional de Lomas de Zamora, 2010). Además, a diferencia de la membrana externa que es lisa, la membrana interna se encuentra muy plegada, formando numerosas ondulaciones o crestas que son de suma importancia debido a que en ellas es dónde se produce la energía química gracias a la cadena de transporte de electrones (De la Fuente, 2018). Cabe decir que tanto la cantidad de crestas presentes en la membrana interna, así como el número de mitocondrias totales, van a depender meramente del requerimiento energético de cada tipo celular en cuestión, siendo abundantes en células con alta demanda energética como lo son las células cardíacas, musculares o nerviosas (Brusco, 2011). Por último, la ubicación en el citoplasma de las mitocondrias también va a estar en función de las necesidades energéticas particulares de la célula, siendo ejemplos clásicos de esto: las mitocondrias presentes en los miofilamentos de las células musculares que permiten la contracción; o en el espermatozoide, donde dichos organelos se alojan en la pieza intermedia formando una vaina alrededor del axonema y permitiendo la movilidad del flagelo (Brusco, 2011).

2.1.1 Origen ancestral de la mitocondria

Diversas hipótesis se han planteado a lo largo de los años para tratar de explicar el origen de las mitocondrias, siendo la teoría endosimbiótica descrita por la científica estadounidense Lynn Margulis en 1970 la que tiene más aceptación científica, producto de las similitudes fisiológicas, bioquímicas y de tamaño encontradas entre las mitocondrias actuales y bacterias ancestrales. Según esta teoría, una α -proteobacteria aerobia de vida libre fue engullida por una bacteria mucho más grande y anaerobia hace alrededor de 1,500 millones de años (De la Fuente, 2018; Méndez y Muhlia, 2018). La simbiosis se originó debido a que la α -proteobacteria encontró un entorno de protección y altamente nutritivo, mientras que la bacteria anaerobia se adaptó y aprovechó la producción extra de energía proveniente de la bacteria engullida para realizar miles de procesos que se llevaban a cabo dentro de ella. Con el paso del tiempo, ambos microorganismos evolucionaron a la par, adquiriendo diversas modificaciones como lo son: la especialización de la doble membrana, permitiendo la formación de crestas mitocondriales y el subsecuente desarrollo de la respiración aerobia; y el resguardo de su propio DNA, conservando únicamente los genes indispensables para la síntesis de proteínas relacionadas a la respiración celular, conocido actualmente como DNA mitocondrial o mtDNA (De la Fuente, 2018; Brusco, 2011). Esta asociación fue de las más importantes para el desarrollo de la vida en la Tierra debido a que permitió la diversificación de los organismos aerobios en una atmósfera que para ese entonces ya era rica en oxígeno gracias al Gran Evento de la Oxidación, siendo este hecho crítico y fundamental para la evolución de la célula eucariota (De la Fuente, 2018).

2.2 Principales reacciones catabólicas aerobias y su ubicación celular

Cuando se inhalan suficientes cantidades de O_2 (estado aerobio), el organismo puede emplear todos los tipos de metabolitos y así obtener la energía necesaria para satisfacer sus funciones. Entre las sustancias que son catabolizadas para este fin se encuentran los azúcares (particularmente la glucosa), los ácidos grasos y los aminoácidos presentes en proteínas (Koolman y Röhm, 2012). Un aspecto importante radica en que aunque todos estos compuestos orgánicos van a producir intermediarios que participan en el ciclo de Krebs, cada uno es catabolizado en un sitio particular de la mitocondria que cuenta con enzimas específicas para tal acción (Tabla 1), exceptuando la glucólisis, la cual se efectúa en el citoplasma.

Tabla 1. Rutas metabólicas de la respiración aerobia y su ubicación celular.

Proceso	Localización
<i>Glucólisis aeróbica</i>	Citoplasma celular
<i>Descarboxilación oxidativa</i>	Matriz mitocondrial
<i>Activación de ácidos grasos</i>	Membrana mitocondrial externa
<i>β-oxidación</i>	Matriz mitocondrial
<i>Ciclo de Krebs</i>	Matriz mitocondrial
<i>Fosforilación oxidativa</i>	Membrana mitocondrial interna

2.2.1 La glucólisis y su ruta universal

Generalmente, la ingesta de carbohidratos en la dieta humana se da a través de polisacáridos (principalmente almidón) que son hidrolizados por enzimas como la ptialina o la amilasa salival y pancreática. Debido a que los azúcares únicamente pueden ser absorbidos en forma de monosacáridos, los productos de la digestión o disacáridos de la dieta tienen que continuar siendo desintegrados en la membrana del borde en cepillo de las células epiteliales intestinales (Universidad de Cantabria, 2017), lugar donde se encuentran diversos tipos de oligosacaridasas (maltasas, lactasas, sacarasas o dextrinasas) cuyos productos de su acción enzimática son los monosacáridos glucosa, galactosa y fructosa (Universidad de Cantabria, 2017).

La glucosa posteriormente es absorbida en contra de sus gradientes de concentración en el duodeno y parte superior del yeyuno gracias a transportadores de glucosa acoplados a sodio (SGLT), los cuales permiten la entrada de dicho monosacárido a las células intestinales debido a una fuerza motriz proporcionada por el gradiente químico de Na^+ y por la acción de una bomba Na^+/K^+ ATPasa, representando así un transporte activo secundario (Millán, 2015; Universidad de Cantabria, 2017). Una vez que se encuentra dentro de las células epiteliales intestinales, la glucosa se mueve hacia el espacio intersticial de dichas células para alcanzar y difundirse en los capilares sanguíneos, llegando de esta manera a todos los tejidos del organismo (Millán, 2015). Paralelamente, cada una de las células del cuerpo expresan alguno de los 14 transportadores de glucosa (GLUT) que se encargan de introducir a este monosacárido hacia el citoplasma aprovechando su gradiente de concentración, siendo una difusión facilitada (Millán, 2015). Una vez en el citoplasma, la glucosa puede empezar la vía catabólica de la glucólisis.

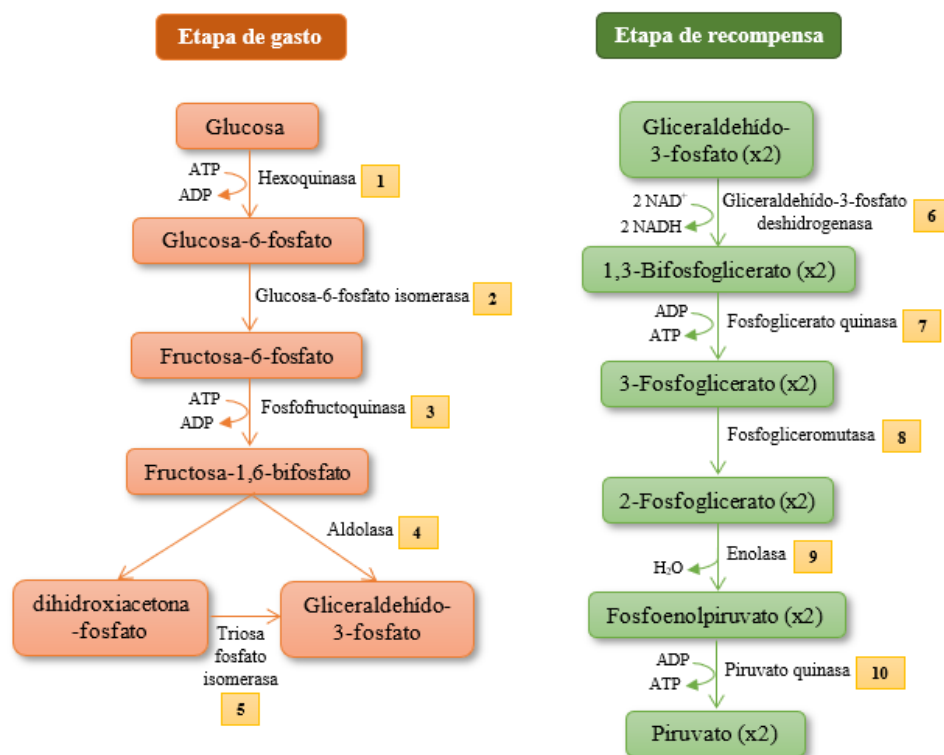


Figura 4. Reacciones de la glucólisis. Modificado de “Etapas de la glucólisis” por Merino, J. y Noriega, M. J., 2019, *Vías metabólicas de degradación*. <https://ocw.unican.es/pluginfile.php/879/course/section/967/Tema%25204A-Bloque%2520I-Vias%2520Degradacion%2520Glucidos.pdf>

La glucólisis es una ruta metabólica universal (efectuado por todos los organismos, ya sea de manera aerobia o anaerobia) donde una molécula de glucosa se transforma en dos moléculas de piruvato a lo largo de 10 reacciones bioquímicas sucesivas (Universidad Nacional de Lomas de Zamora, 2010). A su vez, la glucólisis se puede subdividir en dos fases o etapas de acuerdo con una pérdida o ganancia de ATP, denominadas respectivamente como etapa de gasto y etapa de recompensa (Figura 4) (Martínez et al., 2018).

La primera fase glucolítica (etapa de gasto) consta de las siguientes reacciones:

1. La glucosa es fosforilada en el OH de su carbono 6 pasando a ser glucosa-6-fosfato (G6P).
2. La glucosa-6-fosfato se isomeriza a fructosa-6-fosfato (F6P).
3. La fructosa-6-fosfato se fosforila a nivel del carbono 1, convirtiéndose en fructosa-1,6-bifosfato.
4. La fructosa-1,6-bifosfato se rompe en dos moléculas de tres carbonos cada una: la dihidroxiacetona-fosfato (DHAP) y el gliceraldehído-3-fosfato (G3P).

5. La dihidroxiacetona-fosfato se isomeriza a gliceraldehído-3- fosfato.

En esta etapa existe un consumo de dos moléculas de ATP debido a las fosforilaciones en los pasos 1 y 3.

Mientras que la segunda etapa (de recompensa) abarca los pasos finales. Es importante tener en cuenta de que cada reacción se realiza por duplicado al haber dos moléculas de gliceraldehído-3-fosfato:

6. El gliceraldehído-3-fosfato es oxidado y fosforilado por fosfato inorgánico del medio y no por ATP, pasado a ser 1,3-bifosfoglicerato. La energía libre de la óxido-reducción se conserva en forma de energía de enlace del fosfato.
7. El 1,3-bifosfoglicerato realiza una transferencia del grupo fosfato al ADP para formar ATP mediante fosforilación a nivel de sustrato, pasando a ser 3-fosfoglicerato.
8. El 3-fosfoglicerato transfiere internamente en la molécula el fosfato al carbono 2, formándose 2-fosfoglicerato.
9. El 2-fosfoglicertato se deshidrata formando un doble enlace (enol) y convirtiéndose en fosfoenolpiruvato.
10. El fosfoenolpiruvato transfiere el grupo fosfato al ADP, obteniendo ATP y liberando el producto final de la glucólisis: el piruvato (Merino y Noriega, 2019).

La etapa de recompensa genera 2 moléculas de ATP por cada molécula de gliceraldehído-3-fosfato, lo que es igual a 4 moléculas de ATP por molécula de glucosa. Tomando en cuenta la energía gastada en la primera etapa de la glucólisis, se habla de que la producción neta de esta vía catabólica es de 2 ATP. Aunado a lo anterior, la glucólisis también obtiene 2 moléculas de NADH que son transportadas por malato para ser utilizadas en la cadena de transporte de electrones (Koolman y Röhm, 2012).

Es notorio observar como todos los metabolitos intermediarios de la vía glucolítica son moléculas fosforiladas. La presencia de este grupo fosfato permite: cargar negativamente a cada compuesto, polarizándolos y atrapándolos dentro del citoplasma gracias a que su carga ya no permite que atraviesen la membrana celular; y un aumento de la energía libre, lo cual otorga una mayor energía de activación que facilita el curso de las reacciones (Merino y Noriega, 2019). Por último, la glucólisis se encuentra regulada por tres enzimas partícipes de la propia vía:

1. La hexocinasa (paso 1) es inhibida alostéricamente por el producto de su reacción, la glucosa-6-fosfato. De esta manera se mantiene un equilibrio entre la velocidad de formación de dicha molécula con su velocidad de utilización en el paso siguiente. Además, se garantiza de que no se agote el fosfato inorgánico de la célula en la formación de la hexosa fosforilada.
2. La fosfofructocinasa (paso 3) es la enzima clave o limitante de la velocidad de la ruta glucolítica en la mayoría de los tejidos, siendo inhibida alostéricamente por el ATP y activada a su vez por el ADP y AMP.
3. La piruvato cinasa (paso 10) es inhibida por concentraciones elevadas de ATP o bien de acetil CoA, particularmente cuando se produce una degradación excesiva de otros combustibles metabólicos. Esta inhibición constituye una señal de excedente energético y de desvío para potenciar rutas anabólicas (Merino y Noriega, 2019).

2.2.2 Descarboxilación oxidativa

El piruvato resultante de la glucólisis ingresa posteriormente a la matriz mitocondrial para sufrir la pérdida de un átomo de carbono, reacción catalizada por un sistema multienzimático denominado piruvato deshidrogenasa, conformado por tres enzimas diferentes:

- a) Piruvato deshidrogenasa (E1) que interviene en reacciones de descarboxilación. Contiene pirofosfato de tiamina (TPP) y vitamina B1.
- b) Dihidrolipoil transacetilasa (E2) que cuenta con 2 moléculas de ácido lipoico unidas covalentemente mediante un enlace amida (lipoamida). Interviene en la transferencia de grupos acilo.
- c) Dihidrolipoil deshidrogenasa (E3) que posee FAD (Rodwell et al., 2016).

De manera resumida, el ácido pirúvico se oxida y se transforma en un compuesto de dos carbonos conocido como grupo acetilo. Dicha oxidación está acoplada a la reducción de la coenzima NAD^+ (que pasa a ser NADH) y a la posterior unión del grupo acetilo a una coenzima transportadora llamada coenzima A. El resultado final de la descarboxilación oxidativa es el compuesto denominado acetil-CoA (Figura 5) que es capaz de incorporarse al ciclo de Krebs en pasos metabólicos siguientes (Universidad Nacional de Lomas de Zamora, 2010).

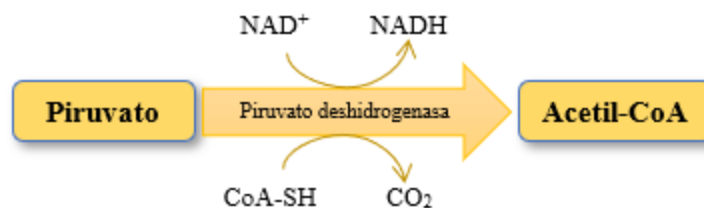


Figura 5. Descarboxilación oxidativa. Elaboración propia.

Similar a las enzimas glucolíticas, la piruvato deshidrogenasa está regulada por sus productos de reacción acetil-CoA y NADH. Altas concentraciones de ambas moléculas impiden que la enzima siga funcionando. Esto ocurre generalmente en excedentes energéticos (Rodwell et al., 2016).

2.2.3 La activación de ácidos grasos

La ingesta de lípidos en la dieta corresponde en gran medida a los triacilglicéridos (TAG) y a porciones pequeñas de lecitinas, ésteres de colesterol o vitaminas liposolubles (Universidad de Cantabria, 2017). Posteriormente, los TAG son hidrolizados por lipasas pancreáticas generando:

- Ácidos grasos que son insolubles en el plasma y que necesitan de la intervención de la albúmina para viajar por el torrente sanguíneo y ser accesibles para otros tejidos.
- Glicerol que es captado por el hígado para ser fosforilado y oxidado a dihidroxiacetona fosfato, participando en la vía glucolítica al isomerizarse en gliceraldehído-3-fosfato (Universitat de Valencia, 2020).

Como los ácidos grasos no son moléculas muy reactivas, deben ser activados por la unión a la coenzima A para ser metabolizados (Universidad de Alcalá, 2018). Dicha activación es catalizada por acil-CoA sintetetas en una reacción que consume ATP y que es llevada a cabo en dos pasos (Figura 6) (Universitat de Valencia, 2020), todo en la membrana mitocondrial externa:

1. El ácido graso reacciona con ATP para formar un aciladenilato, anhídrido mixto donde el grupo carboxilo del ácido graso está enlazado al grupo fosforilo del AMP.
2. El grupo sulfhidrilo del CoA ataca entonces al aciladenilato para formar acil-CoA y AMP (Universitat de Valencia, 2020).

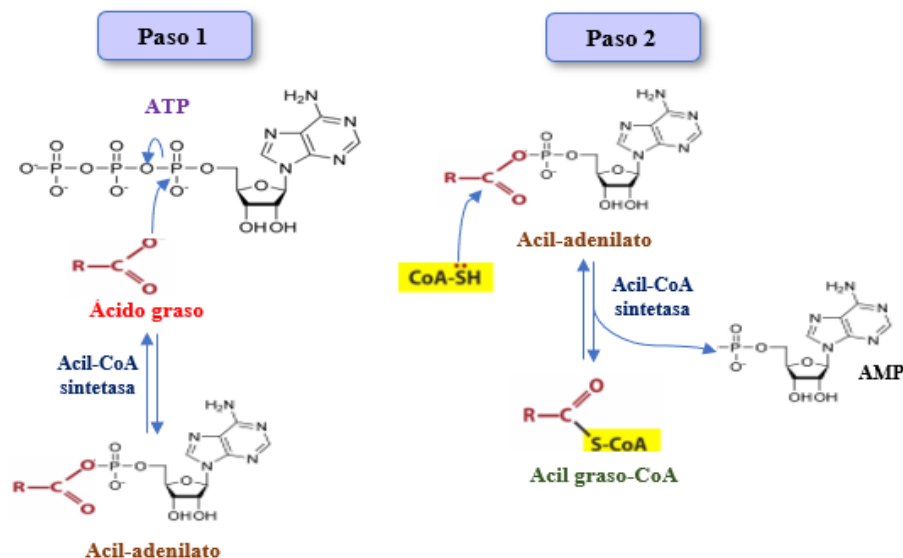


Figura 6. Pasos de la activación de ácidos grasos. Modificado de “Activación y transporte de los ácidos grasos a la mitocondria” por Universitat de Valencia, 2020, *Oxidación de los ácidos grasos*. <https://www.uv.es/marcof/Tema20.pdf>

Una vez que el ácido graso ha sido activado en acil graso-CoA, es transportado a la matriz mitocondrial para entrar en el proceso catabólico de β -oxidación. Cabe mencionar que los ácidos grasos de cadena larga necesitan del transportador carnitina para atravesar la membrana mitocondrial interna y alcanzar la matriz; aspecto que no ocurre con los ácidos grasos de cadena corta, los cuales son transportados directamente a la misma ubicación mitocondrial (Universitat de Valencia, 2020).

2.2.4 La β -oxidación

La β -oxidación es un proceso estrictamente aerobio que se compone de una secuencia en bucle de cuatro reacciones en donde la cadena de un ácido graso se acorta dos átomos de carbono, saliendo éstos en forma de acetil-CoA en cada ciclo (Universidad de Alcalá, 2018). Las cuatro reacciones que conforman esta ruta metabólica (Figura 7) son:

1. Oxidación del acil graso-CoA a trans-2-enoil-CoA (nombre genérico para un ácido graso activado con un doble enlace trans en posición 2) por acción de una acil-CoA deshidrogenasa, una flavoenzima cuyo FAD se reduce a FADH₂.
2. Hidratación por incorporación de una molécula de agua al doble enlace entre los carbonos 2 y 3 catalizada por la enoil-CoA hidratasa (que únicamente actúa sobre dobles enlaces trans) para formar L-3-hidroxiacil-CoA.

3. Una segunda oxidación catalizada por la hidroxiaxil-CoA deshidrogenasa que transforma el grupo hidroxilo en carbonilo para producir 3-cetoacil-CoA. En este paso participa NAD^+ como coenzima, la cual se reduce a NADH.
 4. Tiólisis entre los carbonos α y β catalizada por una tiolasa, liberando una molécula de acetil-CoA al mismo tiempo que la entrada de coenzima A permite que se forme un acil graso-CoA con dos carbonos menos que el de partida (Universidad de Alcalá, 2018).
- Posteriormente, las moléculas de acetil-CoA que se generen son utilizadas en el ciclo de Krebs, mientras que los FADH_2 y NADH participan en la cadena de transporte de electrones mitocondrial.

El acil graso-CoA generado tras este ciclo de cuatro reacciones repetirá el proceso las veces necesarias para que al final todos los carbonos de la cadena del ácido graso salgan en forma de acetil-CoA. Adicionalmente, un átomo de oxígeno se introduce en el carbono β de la molécula de acil graso-CoA al inicio de cada ciclo para sustituir al oxígeno que sale integrado en el grupo carbonilo del acetil-CoA recién sintetizado, recalando así que se necesitan condiciones aerobias para efectuar esta ruta metabólica (Universidad de Alcalá, 2018).

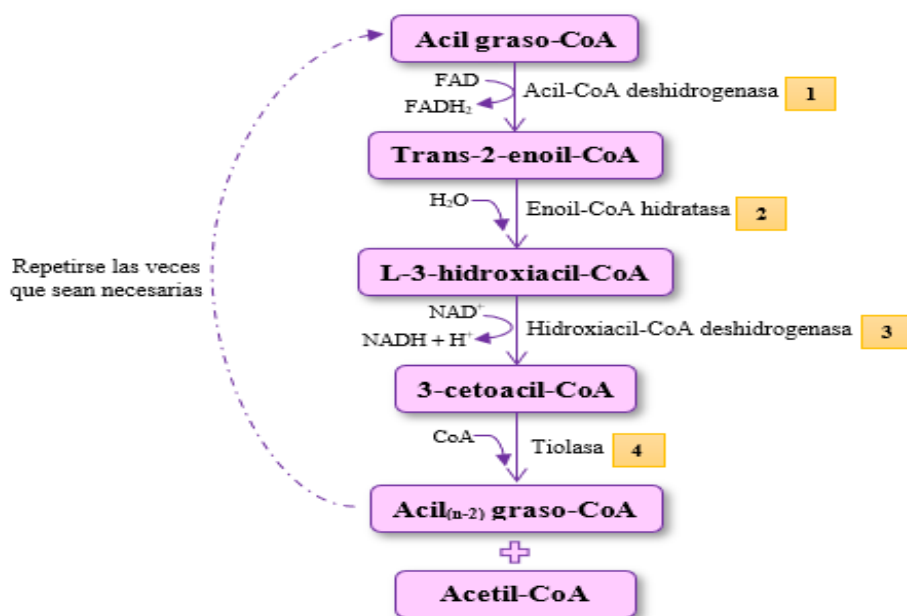


Figura 7. β -oxidación de ácidos grasos. Modificado de “Reacciones de β -oxidación” por Universidad de Alcalá, 2018, β -oxidación mitocondrial de ácidos grasos saturados de cadena par. <http://biomodel.uah.es/model2/lip/acgr-b-oxidacion.htm>

2.2.5 Catabolismo proteico

La ingesta de proteínas en la dieta humana es representada principalmente por el consumo de carne y productos lácteos, aunque también se sabe que una parte importante de las proteínas que llegan al intestino proceden de las secreciones digestivas y/o de las descamaciones de células epiteliales (Universidad de Cantabria, 2017). La digestión proteica comienza por la acción enzimática de la pepsina estomacal que forma polipéptidos, oligopéptidos y algunos aminoácidos; y continúa en el intestino gracias a las proteasas del jugo pancreático (tripsina, quimiotripsina, carboxipeptidasas, colagenasa y elastasa), formándose oligopéptidos y una gran cantidad de diferentes aminoácidos (Universidad de Cantabria, 2017). De manera similar a lo que ocurría con los carbohidratos, la digestión proteica se completa en la membrana en borde de cepillo de los enterocitos, los cuales poseen una serie de aminopeptidasas orientadas hacia la luz intestinal que se encargan de hidrolizar la mayor parte de los péptidos restantes. Finalmente, los aminoácidos libres ingresan a las células debido a un transporte activo secundario acoplado a sodio, del cual existen cuatro tipos distintos: para los aminoácidos neutros, básicos, ácidos y uno específico para prolina e hidroxiprolina (Universidad de Cantabria, 2017).

Posteriormente, los aminoácidos se degradan siguiendo tres etapas:

1. Una desaminación mediante la cual los grupos amino se convierten en amoníaco o en los grupos amino del aspartato, mientras que los esqueletos carbonados se convierten en intermediarios comunes. A su vez, esta etapa se subdivide en dos pasos:
 - a) Transaminación: se basa en transferir un grupo amino a un α -cetoácido, generalmente α -cetoglutarato u oxalacetato para formar un α -cetoácido del aminoácido original y un nuevo aminoácido, siendo respectivamente glutamato (principalmente) o aspartato (Figura 8); aunque cabe decir que son reconvertidos entre sí por la acción de la glutamato-aspartato aminotransferasa (Facultad de Química, 2013).

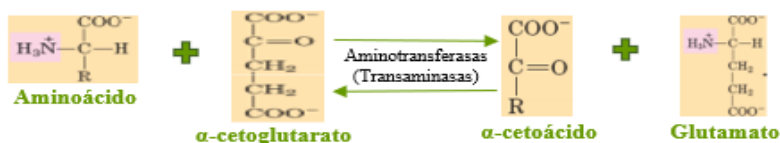
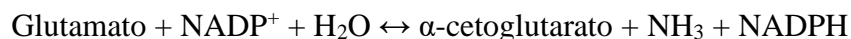


Figura 8. Ejemplo de transaminación con α -cetoglutarato. Modificado de “Transaminación” por Facultad de Química, 2013, *Catabolismo de aminoácidos*. http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/CatabolismoAminoacidos_33995.pdf

Tabla 2. Destinos catabólicos de los distintos aminoácidos.

Aminoácido	Categoría	Producto
Glutamato	Glucogénicos	α -cetoglutarato
Arginina		
Histidina		
Prolina		
Metionina	Glucogénicos	Succinil-CoA
Valina		
Asparagina	Glucogénicos	Oxalacetato
Aspartato		
Alanina	Glucogénicos	Piruvato
Cisteína		
Glicina		
Serina		
Lisina	Cetogénico	Acetoacetyl-CoA
Leucina	Cetogénico	Acetyl-CoA, acetoacetyl-CoA
Fenilalanina	Glucogénicos y cetogénicos	Fumarato, acetoacetyl-CoA
Tirosina		
Isoleucina	Glucogénico y cetogénico	Succinil-CoA, acetyl-CoA
Treonina	Glucogénico y cetogénico	Succinil-CoA, piruvato, acetyl-CoA
Triptófano	Glucogénico y cetogénico	Piruvato, acetyl-CoA

- b) Desaminación oxidativa: proceso mediante el cual se elimina el grupo amino del glutamato y se libera como amoníaco, siguiendo la siguiente reacción catalizada por la enzima glutamato deshidrogenasa:



2. La incorporación de los átomos de nitrógeno del amoníaco y del aspartato a la urea para su excreción.
3. La conversión de los esqueletos de carbono de los aminoácidos (los α -cetoácido producidos por la desaminación) en intermediarios metabólicos comunes (Facultad de Química, 2013).

Una vez que han perdido el grupo amino, las cadenas carbonadas de todos los aminoácidos pueden seguir diferentes destinos metabólicos, dividiéndose así en dos grandes grupos (Tabla 2): los que se transforman en intermediarios del ciclo de Krebs y/o precursores de la glucosa (glucogénicos); y los que pasan a ser acetyl-CoA y cuerpos cetónicos (cetogénicos) (Newsholme et al., 2011).

2.2.6 Ciclo de Krebs

El ciclo de Krebs (del ácido cítrico o de los ácidos tricarbóxicos) es una ruta metabólica cíclica que se da en la matriz mitocondrial de todos los organismos aerobios y que consta de ocho reacciones secuenciadas (Figura 9) cuya finalidad es oxidar los restos de acetilo para producir CO_2 y así propiciar la reducción de las coenzimas NAD y FAD, las cuales posteriormente desplazarán los electrones excedentes a través de la cadena respiratoria (Koolman y Röhm, 2012; Universidad Nacional de Lomas de Zamora, 2010).

Las reacciones presentes en el ciclo de Krebs son un combinado de descarboxilaciones, oxidaciones de sustrato y transferencia de enlaces de alta energía. Los 8 pasos esenciales son:

1. Se condensa tanto el oxalacetato como el acetyl-CoA para producir citrato. Este acetyl-CoA utilizado es el mismo que proviene de la descarboxilación oxidativa, la β -oxidación y el catabolismo de ciertos aminoácidos.
2. El citrato se isomeriza a isocitrato.

3. Oxidación y descarboxilación del isocitrato para generar α -cetoglutarato y CO_2 .
4. Una segunda oxidación y descarboxilación, pero ahora del α -cetoglutarato para dar succinil-CoA y CO_2 .
5. Conversión del succinil-CoA en succinato con formación de un enlace fosfato de alta energía.
6. Oxidación del succinato a fumarato.
7. Hidratación del fumarato a malato.
8. Oxidación del malato a oxalacetato, recuperándose el compuesto inicial del ciclo (Merino y Noriega, 2019).

De esta manera, en cada vuelta del ciclo de Krebs se oxida un residuo acetilo a 2 moléculas de CO_2 , se origina un ATP por fosforilación a nivel de sustrato (GTP) y se cuentan con 3 NADH y 1 FADH_2 .

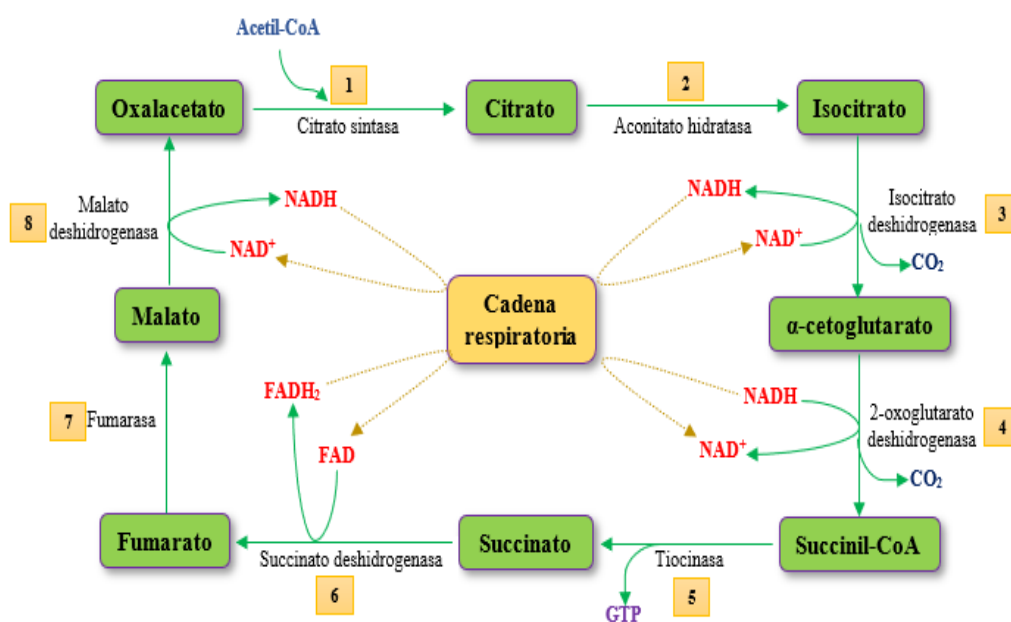


Figura 9. Ciclo de Krebs. Modificado de "Reacciones del Ciclo de Krebs" por Koolman, J. y Röhm, K. H., 2012, *Bioquímica humana. Texto y Atlas*. Médica Panamericana, p. 115.

Aunque el O_2 no participa directamente en el ciclo de Krebs, ésta vía no se desarrolla en condiciones anaerobias porque la regeneración de las coenzimas a su forma oxidada, necesaria para la continuidad del ciclo, sólo se realiza por transferencia de electrones al oxígeno molecular (Merino y Noriega, 2019). Por último, esta ruta metabólica constituye el núcleo central del metabolismo intermediario al ser de carácter anfibólico:

- Gran cantidad de moléculas terminan su catabolismo oxidativo en alguno de los metabolitos intermediarios del ciclo de Krebs, aprovechando así la disponibilidad de los combustibles de manera eficiente.
- Mientras que estos mismos metabolitos pueden ser extraídos de la ruta e introducidos en rutas anabólicas ya sea para glúcidos, aminoácidos e inclusive nucleótidos (Merino y Noriega, 2019).

La importancia central del ciclo de Krebs es tanta que incluso existen las llamadas reacciones anapletóricas. Estas reacciones están destinadas a reponer el déficit de algunos de los intermediarios del ciclo, retirados para procesos sintéticos, evitando que se produzca un descenso en la velocidad global del ciclo (Merino y Noriega, 2019; Koolman y Röhm, 2012).

2.2.7 Cadena respiratoria y fosforilación oxidativa

Propiamente dicho, la cadena respiratoria es parte del proceso de fosforilación oxidativa que tiene como objetivo la síntesis de ATP, gracias a un gradiente de protones provocado por el transporte progresivo de electrones a través de complejos proteicos anclados a la membrana mitocondrial interna (Tabla 3) (Koolman y Röhm, 2012). Un aspecto fundamental recae en que cada complejo proteico cuenta a su vez con cofactores redox que son los encargados de facilitar el flujo electrónico por toda la cadena hasta llegar al último aceptor de electrones: el oxígeno u O_2 (Koolman y Röhm, 2012).

Tabla 3. Complejos proteicos de la cadena respiratoria y fosforilación oxidativa.

Complejo	Enzima	Cofactores redox
I	NADH deshidrogenasa	Flavina (FMN o FAD) Centros Fe/S
II	Succinato deshidrogenasa	Flavina (FMN o FAD) Centros Fe/S
III	Ubiquinol-citocromo c reductasa	Centros Fe/S Grupos hemo (tipo b y c)
IV	Citocromo c oxidasa	Centros de Cu (Cu_A y Cu_B) Grupos hemo (tipo a y a_3)
V	ATPasa	No aplica

Los pasos de la cadena de transporte de electrones (Figura 10) son:

1. El par de electrones excedente de la coenzima reducida NADH (la cual es generada en los procesos anteriores) se incorpora a la cadena por medio de FMN y los centros Fe/S. Esto provoca el paso de cuatro protones desde la matriz mitocondrial hasta el espacio intermembrana de dicho organelo.
2. Los electrones se asocian a la molécula de transferencia ubiquinona (coenzima Q) que sirve como puente para trasladarlos al complejo III, ocasionando la entrada de otros cuatro protones al espacio intermembrana. Paralelamente, los electrones provenientes de la coenzima reducida FADH₂ entran por el complejo II gracias a la flavoproteína transportadora de electrones (ETF), llegando igualmente a la coenzima Q y posteriormente al complejo III.
3. Los grupos Fe/S y hemo presentes en el complejo III posibilitan la llegada de los electrones a otra molécula de transferencia llamada citocromo C.
4. Posteriormente los electrones pasan hacia el complejo IV que cuenta con centros de cobre y grupos hemo que los movilizan hacia el oxígeno, el cual se transforma en anión superóxido y se combina fácilmente con dos átomos de hidrógeno de la matriz para generar agua. La llegada de electrones al complejo IV internaliza otros dos protones de la matriz hacia el espacio intermembrana (Koolman y Röhm, 2012).

El paso de los electrones desde el NADH y FADH₂ a través de la cadena respiratoria propicia así un bombeo de protones desde la matriz interna mitocondrial hasta el espacio intermembrana; y es aquí donde se genera una acumulación de H⁺ que gracias a una fuerza protón-motriz (producto del gradiente de pH y del potencial eléctrico) se provoca un flujo abrupto de protones que va ahora desde el espacio intermembrana hacia la matriz interna (Rosas et al., 2010). Dicho flujo pasa a través de la enzima ATPasa, ocasionando un movimiento mecánico en las subunidades de esta enzima que facilita la fosforilación de ADP para convertirlo en ATP (Rosas et al., 2010). Finalmente el ATP sintetizado puede ser utilizado en todos los procesos celulares endergónicos donde se requiera una vez que éste sale de la mitocondria a través de porinas y un sistema de cotransporte que ingresa simultáneamente una molécula de ADP por cada ATP exportado (Koolman y Röhm, 2012; Universidad Nacional de Lomas de Zamora, 2010). Cabe decir que por cada molécula de NADH se producen 2.5 ATP (redondeado a 3), mientras que por cada FADH₂ se obtienen 1.5 ATP (redondeado a 2) (Rosas et al., 2010).

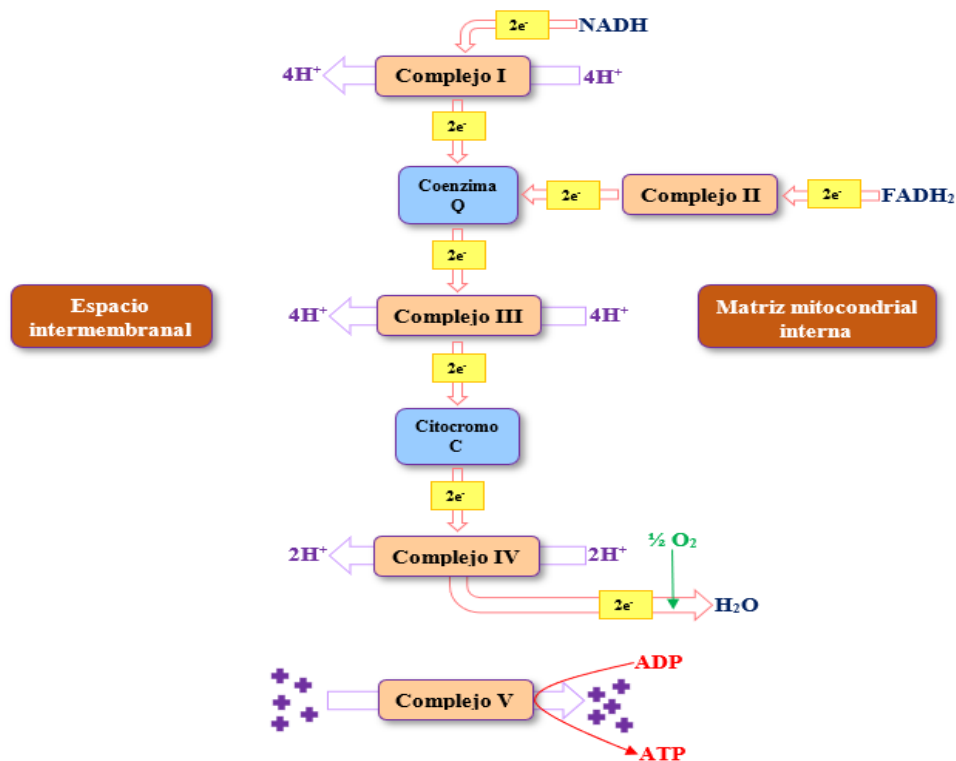


Figura 10. Cadena de transporte de electrones y fosforilación oxidativa. Elaboración propia.

2.3 Balance energético neto

En condiciones aerobias y gracias al catabolismo oxidativo del organismo, la producción neta de energía está mediada por:

- La glucólisis que produce dos moléculas de ATP directamente más dos moléculas de NADH.
- La descarboxilación oxidativa del ácido pirúvico que rinde dos NADH por molécula de glucosa.
- El ciclo de Krebs que produce 2 moléculas de ATP, 6 de NADH y 2 de $FADH_2$ por cada glucosa.

Todo esto representan los 38 ATP máximos alcanzados por cada molécula de glucosa (Tabla 4). A esa cantidad habría que sumar la energía proporcionada por la β -oxidación que también otorga moléculas útiles para el ciclo de Krebs y la fosforilación oxidativa en forma de coenzimas reducidas y acetil-CoA, aunque esto va a depender de la longitud de cada ácido graso catabolizado en cuestión.

Tabla 4. Rendimiento energético por molécula de glucosa.

Producción de moléculas en:

Proceso		Producción de moléculas en:		
		Citosol	Matriz mitocondrial	Transporte electrónico
Glucólisis		2 ATP		→ 2 ATP
		2 NADH		→ 6 ATP → 6 ATP
Procesos estrictamente aerobios	Carboxilación oxidativa		2 x (1 NADH)	→ 2 x (3 ATP) → 6 ATP
	Ciclo de Krebs		2 x (1 ATP)	→ 2 ATP
			2 x (3 NADH)	→ 2 x (9 ATP) → 18 ATP
		2 x (1 FADH ₂)	→ 2 x (2 ATP) → 4 ATP	
Total				38 ATP

La energía libre que ocurre durante la glucólisis y la respiración es de aproximadamente -686 kilocalorías por mol, siendo un proceso extremadamente exergónico que no sería compatible con la vida si se llevara a cabo en un único paso debido a que el calor generado no resultaría aprovechable para la célula (Universidad Nacional Lomas de Zamora, 2010). Esa es la principal razón por la cual la evolución le otorgó a los organismos superiores una serie de procesos sucesivos y escalonados donde la energía se liberara fraccionadamente y pudiera ser aprovechada plenamente por cada célula (Universidad Nacional Lomas de Zamora, 2010; Blanco, 2011).

En ausencia de O₂ (anaerobiosis) o en caso de que se produzca un déficit temporal de éste (hipoxia), los mamíferos únicamente pueden producir ATP mediante una glucólisis anaerobia, debido a que sin oxígeno ya no se pueden reoxidar las coenzimas NADH y FADH₂ en la cadena respiratoria ni efectuarse la β-oxidación de ácidos grasos, por lo que la respiración celular mitocondrial queda detenida (Koolman y Röhm, 2012). Siendo este el caso, los organismos aerobios recurren a una fermentación láctica:

- a) En caso de que la hipoxia perdure mucho tiempo, el NADH del citoplasma debe ser reoxidado constantemente. Para ello, el piruvato resultante de la glucólisis se reduce y pasa a ser lactato que es volcado al torrente sanguíneo.

- b) La fermentación láctica únicamente otorga 2 moléculas de ATP, 15 veces menos que los ATP obtenidos en condiciones aerobias. Además, el ácido láctico elevado en sangre provoca una acidosis láctica que atentaría todavía más contra la integridad del cuerpo (Koolman y Röhm, 2012).

2.4 Enfermedades mitocondriales

Todos los procesos catabólicos realizados dentro de las mitocondrias que están enfocados en la obtención de ATP pueden verse obstaculizados por la presencia de las llamadas enfermedades mitocondriales (EM), las cuales son un amplio abanico de alteraciones en el metabolismo oxidativo mitocondrial (Ruíz-Siebold y Canales, 2013). El cuadro clínico de las EM es muy heterogéneo y va desde pequeñas disfunciones energéticas o musculares hasta graves daños progresivos y multisistémicos que pueden manifestarse con cualquier síntoma en cualquier órgano y a cualquier edad, complicando en gran medida la obtención de un diagnóstico certero y precoz (Koolman y Röhm, 2012; Rosales et al., 2017). Sin embargo, los signos de alerta se observan de manera más notoria en órganos con alta demanda energética (corazón, músculos, cerebro) y se debe sospechar de una enfermedad mitocondrial cuando se observan anomalías en 3 sistemas o más (Gort y García-Villoria, 2017).

Es importante saber que las enfermedades mitocondriales no tienen cura y los tratamientos son únicamente para mejorar la calidad de vida de los pacientes en medida de lo posible. Pese a que el diagnóstico es complejo, pueden realizarse distintas pruebas y exámenes para delimitar la enfermedad y tratarla de mejor manera. Entre los exámenes solicitados están: la determinación de ácido láctico, piruvato, carnitina y aminoácidos en sangre, ácidos orgánicos en orina, estudios histoenzimáticos efectuados con biopsias musculares y estudios genéticos relacionados al DNA mitocondrial (Gort y García-Villoria, 2017; Rosales et al., 2017).

Se sabe que mutaciones en el DNA mitocondrial son las causas etiológicas de algunas EM (Tabla 5) pero las razones puntuales de estas mutaciones siguen en debate. Según una teoría, las mutaciones son producto de las grandes cantidades de ERO que existen en la mitocondria debido a su participación en otros procesos celulares como lo es la apoptosis (Koolman y Röhm, 2012) y al no contar con genes reguladores, el mtDNA se hace especialmente susceptible a este tipo de daños. Sin embargo, esto sigue bajo investigación.

Tabla 5. Ejemplos de enfermedades mitocondriales.

Enfermedad	Síntomas	Causa
SKS (Síndrome de Kearns-Sayre)	Parálisis de músculos oculares y párpados, degeneración de pigmentación de la retina	Deleción general de mtDNA
MELAS (encefalomiopatía y acidosis láctica con accidente cerebro vascular)	Episodios similares al accidente cerebrovascular, miopatía mitocondrial, acidosis láctica	Generalmente por mutación puntual en el gen del tRNA ^{Leu}
MERRF (epilepsia mioclónica asociada a “fibras rojas rotas”)	Convulsiones musculares involuntarias, ataques epilépticos, cambios en las fibras musculares, polineuropatía	Generalmente por mutación puntual en el gen del tRNA ^{Lys}
FRDA (ataxia de Friedreich)	Trastornos en la coordinación de los movimientos (ataxia)	Mutaciones en el gen de la proteína frataxina, esencial en la síntesis de los centros Fe/S

3. Aparato respiratorio

Como se mencionó anteriormente, cada una de las células que conforman a los organismos aerobios necesitan de un continuo suministro de oxígeno para el mantenimiento de todas sus funciones vitales, englobándose los procesos de crecimiento, reparación, reconstrucción y respiración celular (Quesada, 2011). Aunque una persona puede soportar semanas de ayuno y/o deshidrataciones de alrededor de 72 horas, solamente puede aguantar unos cuantos minutos sin oxígeno antes de morir, recalando el hecho de que sin este bioelemento ninguna función de nuestro organismo podría ejecutarse (Agencias Sinc, 2019). Por ello, para posibilitar la entrada en cantidades adecuadas del oxígeno presente en el aire hacia el interior del cuerpo humano, se cuenta con una serie de estructuras anatómicas especializadas para el intercambio gaseoso entre la atmósfera y la sangre: el aparato respiratorio (Figura 11) (Asenjo y Pinto, 2017); el cual a su vez se subdivide en tres porciones (Tabla 6) que se complementan entre sí:

- La porción conductora (o de las vías respiratorias superiores) comprende desde las fosas nasales hasta los bronquiolos respiratorios, y es la encargada de introducir el aire del medio externo a estos órganos (Facultad de Medicina, 2010). La tráquea, los bronquios principales y la primera docena de divisiones de los bronquios más pequeños tienen ya sea anillos o placas de cartílago en sus paredes, cuya función es la de evitar su colapso por el paso del aire, principalmente en las exhalaciones (Sánchez y Concha, 2018).
- La porción respiratoria es representada característicamente por el árbol bronquial que es la serie de subdivisiones (alrededor de 23) que sufren los bronquiolos de manera profusa y cuesta abajo hasta terminar en cúmulos de alvéolos o sacos alveolares, siendo aquí donde se da el intercambio real de oxígeno por dióxido de carbono (Facultad de Medicina, 2010). Tanto estos bronquiolos como los alvéolos no cuentan con cartílago, otorgándoles propiedades elásticas que responden a cambios de presión conforme los pulmones se expanden o contraen (Sánchez y Concha, 2018).
- Y la porción ventilatoria que consta de un aparato musculoelástico que interviene mecánicamente en el transporte de gases, participando la caja torácica, el diafragma, los músculos intercostales, la musculatura lisa de los conductos y la trama elástica del parénquima pulmonar (Brusco, 2011).

Tabla 6. Porciones respiratorias y sus respectivas funciones.

Porción	Función	Anatomía
Conductora	Conducción y acondicionamiento del aire (entibiándolo y humidificándolo) así como purificarlo, limpiarlo y aclararlo en contra de antígenos y partículas inhaladas.	Orificios nasales, nariz, boca, faringe, laringe, tráquea, bronquios y bronquiolos.
Respiratoria	Centrada en el intercambio gaseoso de oxígeno y dióxido de carbono entre la atmósfera y la sangre.	Bronquiolos, conductos y sacos alveolares (alvéolos)
Ventilatoria	Creación de flujos de aire gracias a gradientes de presión ocasionados por la contracción de músculos torácicos.	Diafragma, músculos intercostales y en algunos casos los músculos escalenos y el esternocleidomastoideo.

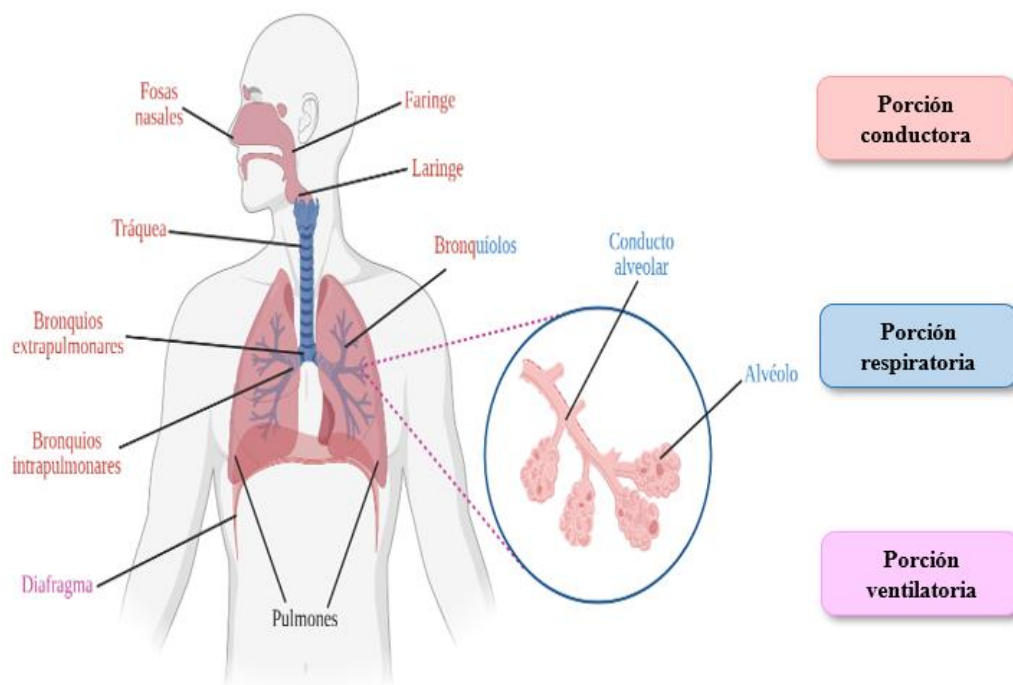


Figura 11. Estructuras anatómicas de las distintas porciones del aparato respiratorio. Elaboración propia.

La respiración, proceso que figura como la tarea principal del aparato respiratorio, incluye tres funciones separadas pero relacionadas:

1. La ventilación pulmonar que hace referencia al flujo de entrada y salida de aire entre la atmósfera y los alvéolos pulmonares (Stuart, 2014).
2. La difusión (también llamada *hematosis*) del O_2 hasta y a través de las paredes de los alvéolos para oxigenar la sangre que circula por los capilares alveolares en función de las necesidades corporales; mientras que al mismo tiempo el CO_2 (producto del metabolismo oxidativo) es expulsado del sistema en un volumen equivalente (Bonilla et al., 2015).
3. Transporte del oxígeno hacia todos los tejidos del organismo para su utilización en las reacciones metabólicas exergónicas (Stuart, 2014).

De esta manera, a la combinación entre la ventilación pulmonar y la hematosis se le denomina respiración externa; mientras que el intercambio de gases entre la sangre y otros tejidos, y la utilización del oxígeno por todas las células se conocen en conjunto como respiración interna (Hall, 2016).

Simultáneamente, el aparato respiratorio también participa en:

- a) El mantenimiento de la temperatura corporal y la saturación de vapor de agua en el interior de las vías aéreas pulmonares, con el propósito de mantener la viabilidad y las capacidades funcionales de las células y los líquidos de la superficie (Ornelas, 2010).
- b) La protección contra agentes patógenos y/o sustancias irritantes que son inhaladas, al actuar como barrera anatómica y poseer mecanismos defensivos como lo es la tos, los estornudos o el aparato mucociliar (García y Sibila, 2013).
- c) La regulación del pH corporal al mantener estable el equilibrio químico entre el par conjugado $\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{CO}_3$ (bicarbonato/ácido carbónico) (Brusco, 2011).
- d) La fonación y vocalización, gracias a las vibraciones de las cuerdas vocales que son ocasionadas por el paso del aire a través de la laringe (Reiriz, 2015).
- e) La transformación de la angiotensina I en angiotensina II por la enzima convertidora de angiotensina (ECA), debido a que el pulmón es uno de los órganos donde ocurre este paso del sistema renina-angiotensina-aldosterona (Sánchez y Concha, 2018).

3.1 Ventilación pulmonar

La ventilación pulmonar es una serie de procesos mecánicos que permiten la entrada y salida de aire de los alvéolos debido a gradientes de presión, los cuales son ocasionados por la contracción y relajación de músculos torácicos y abdominales (Mariño, 2017). Para comprenderla de una mejor manera, es necesario puntualizar un par de aspectos:

- a) Los pulmones son órganos incapaces de expandirse y/o contraerse por sí mismos (National Heart, Lung, and Blood Institute, 2019). Por ello, y para que se generen los gradientes de presión necesarios para la ventilación, los pulmones están recubiertos completa e íntimamente con una membrana serosa, lisa y brillante llamada pleura visceral, la cual a su vez se encuentra estrechamente unida a la pleura parietal, una membrana homóloga que recubre a la cavidad torácica y al mediastino (Brusco, 2011). La existencia de estas dos membranas ocasiona que los pulmones queden “pegados” a la caja torácica y, por ende, se muevan dependientemente y en asociación con el tórax (Reiriz, 2015). El espacio virtual y cerrado herméticamente que existe entre ambas pleuras (denominado cavidad pleural) contiene un líquido lubricante conocido como líquido pleural, cuya misión es reducir el roce entre las pleuras y evitar posibles interferencias que llegasen a alterar a los movimientos respiratorios (Reiriz, 2015).

- b) El aire atmosférico es una mezcla de gases, principalmente nitrógeno (78.08%) y oxígeno (20.95%), aunque también se sabe de la presencia en menor medida de argón, neón, helio e hidrógeno (Camilloni y Vera, 2016), cuya suma de presiones parciales corresponde a 760 mmHg a nivel del mar. Sin embargo, por convención, en fisiología respiratoria se considera a la presión atmosférica como 0 mmHg; de modo que se habla de una *presión negativa* cuando nos referimos a una presión intrapulmonar que se encuentra por debajo de la atmosférica (< 0 mmHg), mientras que una *presión positiva* es aquella que es superior a la de la atmósfera (> 0 mmHg) (Ovalle, 2012).

Los eventos que integran a la ventilación pulmonar son dos (Figura 12): la inspiración (entrada de aire hacia los pulmones) que es un proceso activo que gasta energía debido a contracciones musculares; y la espiración (expulsión del aire) que es un proceso pasivo favorecido por la elasticidad de los pulmones y la relajación de los músculos respiratorios (West y Luks, 2016; Mackenney, 2021):

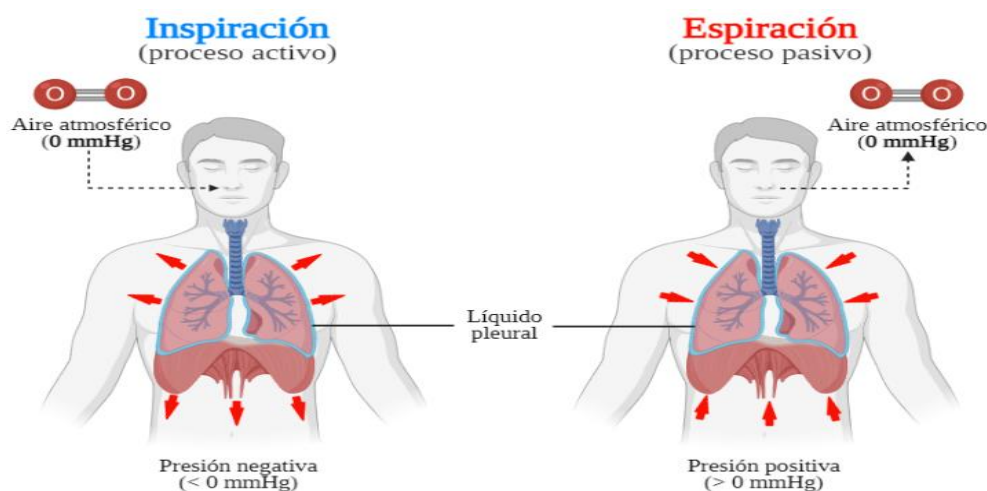


Figura 12. Procesos de la ventilación pulmonar. Elaboración propia.

1. En la inspiración existe una contracción tanto del diafragma (desplazando el contenido abdominal hacia abajo y hacia afuera) como de los músculos intercostales (levantando las costillas), ocasionando que el tórax se alargue y se eleve el diámetro de la cavidad torácica (West y Luks, 2016). Aplicando la Ley de Boyle, la cual enmarca que si el volumen aumenta la presión disminuye y viceversa (Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina, 2018), este incremento del volumen torácico provoca que la presión intrapulmonar se reduzca y se convierta en una presión negativa con respecto a la

atmosférica, lo que permite el paso del aire proveniente del exterior hacia las vías respiratorias y al parénquima pulmonar (Mackenney, 2021). Adicionalmente, y en condiciones de ventilación extrema o de insuficiencia respiratoria, en la inspiración también participan los músculos escalenos, los pectorales y el esternocleidomastoideo del cuello (Reiriz, 2015).

2. Durante la espiración, los músculos respiratorios simplemente se relajan (sin haber gasto de energía) y vuelven a sus posiciones de reposo (West y Luks, 2016). A medida que esto sucede, el volumen de la cavidad torácica disminuye y ocasiona que la presión intrapulmonar aumente, generando una presión positiva que permita la expulsión del aire presente en los pulmones hacia el ambiente exterior (Reiriz, 2015). Esta presión positiva es influenciada por la compresión que sufren los pulmones por su propio rebote elástico (que los hace regresar a sus dimensiones más pequeñas una vez que son expandidos tras una inspiración) y por las propiedades elásticas de la pared torácica y de las estructuras abdominales (Pérez, 2012).

Un aspecto de suma importancia es que no existen los flujos de aire en estados basales donde la presión atmosférica y la presión intrapulmonar es la misma; por lo que la presencia y alternancia de presiones negativas (inspiración) y positivas (espiración) es fundamental para el correcto ingreso de aire hacia los pulmones y su posterior expulsión hacia el ambiente, garantizando el primer paso de la respiración (Reiriz, 2015).

3.1.1 Regulación

Normalmente el sistema nervioso central ajusta la velocidad de ventilación alveolar casi exactamente a las demandas del cuerpo, de modo que la presión de oxígeno y la de dióxido de carbono en la sangre arterial apenas se alteran, incluso durante el ejercicio y la mayoría de los demás tipos de agresión respiratoria (Hall, 2016). De manera práctica, los elementos que intervienen en el control de la respiración son de tres tipos: los sensores o receptores, los controladores y los efectores (García et al., 2011).

Los *sensores* se encargan de recibir la información acerca de los cambios en la composición química de la sangre o del medio que los rodea y enviarla a los controladores o centros respiratorios (García et al., 2011). Algunos de los sensores más estudiados (Figura 13) son:

- a) Quimiorreceptores centrales. Localizados en la superficie ventrolateral del bulbo raquídeo (cerca de la salida de los pares craneales IX y X) y en contacto directo con el LCR, son muy sensibles a cambios en la presión parcial de CO_2 (pCO_2) (Stuart, 2014; Arandia y Bertrand, 2018). El CO_2 , tanto el generado por el metabolismo cerebral como el proveniente de la sangre arterial, contribuye en la disminución del pH del LCR y del líquido intersticial cerebral debido a que es capaz de combinarse con agua para formar ácido carbónico, un ácido débil que puede liberar H^+ hacia la solución (Stuart, 2014). Variaciones en estos pH estimulan a las neuronas de los quimiorreceptores centrales ya sea de modo directo o por medio de células gliales (Stuart, 2014), para posteriormente mandar esta información a las neuronas del centro de la ritmicidad del bulbo raquídeo a través de conexiones sinápticas (Stuart, 2014; Arandia y Bertrand, 2018) y generar así un *feedback* en los niveles sanguíneos de CO_2 , ocasionando que la ventilación se adapte a las necesidades metabólicas (Nogués y Benarroch, 2011).
- b) Quimiorreceptores periféricos. Se incluyen principalmente a los cuerpos aórticos (ubicados alrededor del arco aórtico) y a los cuerpos carotídeos (situados en la ramificación de las arterias carótidas) (Stuart, 2014), los cuales responden a cambios sanguíneos de pH, ocasionados por la transformación de CO_2 a ácido carbónico (de manera similar a lo que ocurre en el LCR); de la presión parcial de O_2 (pO_2), generalmente cuando se disminuye por debajo de 70 mmHg; y en menor medida por aumento de la presión parcial de CO_2 (García et al., 2011; Arandia y Bertrand, 2018; Stuart, 2014). Los quimiorreceptores periféricos controlan la respiración de manera indirecta, ya que envían su información sensorial al bulbo raquídeo a través del nervio vago (cuerpos aórticos) y del nervio glosofaríngeo (cuerpos carotídeos) para ayudar en la estabilización de la ventilación, en dado que sea necesario (Stuart, 2014).
- c) Reflejos nerviosos pulmonares. Son producto de señales nerviosas sensitivas que inician en las porciones musculares de las paredes de bronquios y bronquiolos, y que se comunican con los centros respiratorios a través del nervio vago (Hall, 2016; García et al., 2011). Estos sensores actúan, principalmente y a manera de protección, deteniendo a la inspiración en casos que haya insuflación excesiva (gracias a receptores de distensión que activan al reflejo de Hering-Breuer), irritación (al poseer receptores mediados por inhalación de gases irritantes, histamina, reacciones alérgicas, congestión pulmonar y estímulos mecánicos) o

procesos que comprometan esa área (como por edema intersticial, activando receptores J o yuxtacapilares) (Hall, 2016; García et al., 2011).

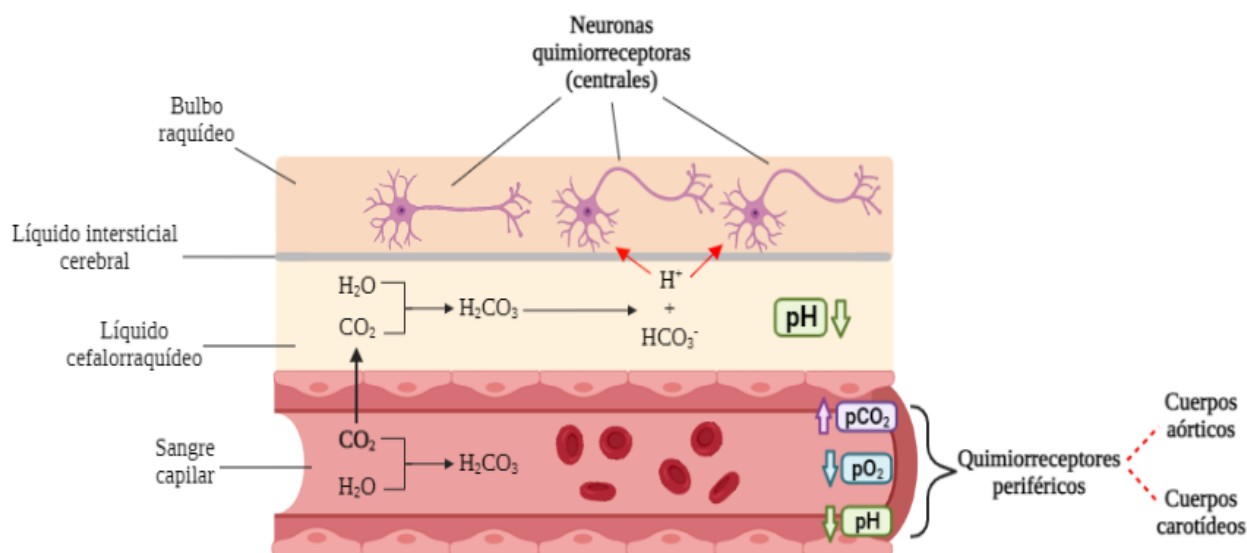


Figura 13. Quimiorreceptores que participan en la regulación ventilatoria. Modificado de “Cómo afecta el CO_2 sanguíneo a los quimiorreceptores en el bulbo raquídeo” por Stuart, I. F., 2014, *Fisiología humana*. McGraw-Hill Education, p. 556.

Además de los sensores anteriores, la ventilación pulmonar también puede estar influenciada por: receptores en las articulaciones que son estimulados durante el ejercicio y envían impulsos al centro respiratorio; receptores hipertérmicos que se activan al censar un aumento en la temperatura corporal, la cual provoca una hiperactividad del metabolismo celular que eleva la concentración de CO_2 , incrementando indirectamente la frecuencia con que se realicen las ventilaciones pulmonares; la actividad del centro vasomotor, ya que si ésta aumenta también lo hacen los centros respiratorios; y situaciones particulares como hiperpotasemia o hiperosmolalidad (Reiriz, 2015; García et al., 2011).

Los *controladores* son los encargados de generar el ritmo respiratorio basal, procesar la información de los sensores y modificar, en consecuencia, su nivel de actividad en función de las necesidades metabólicas (función homeostática), conductuales y voluntarias (funciones no homeostáticas) (García et al., 2011). A pesar de que existen dos mecanismos nerviosos que regulan la respiración, uno encargado para la respiración voluntaria (hallado en la corteza cerebral) y otro para la involuntaria (impulsado por células marcapaso en el tallo encefálico), es la segunda la que se impone a la primera debido a que su principal tarea es evitar todos los posibles cambios fisiológicos secundarios a una modificación ventilatoria (Barrett et al., 2010; Arandia y Bertrand,

2018). Los controladores involuntarios (Figura 14) son la serie de centros bulbares, el centro neumotáxico y el centro apnéustico (García et al., 2011):

- a) Centros bulbares. El ritmo respiratorio es generado por una agregación laxa de neuronas en la región ventrolateral del bulbo raquídeo, formando el denominado centro de la ritmicidad para el control de la respiración automática (Stuart, 2014). Aquí se han identificado dos tipos de neuronas: neuronas I que se activan en la inspiración y neuronas E en la espiración (Stuart, 2014). El centro de la ritmicidad se compone de dos grupos de neuronas interconectados entre sí:

-El *grupo respiratorio dorsal* (GRD), conformado por neuronas I, envía proyecciones a las motoneuronas de los nervios frénicos e intercostales, siendo, por tanto, el responsable de la actividad mantenida del diafragma durante la inspiración (García et al., 2011). Sin embargo, el GRD no es una estructura obligada en la generación del ritmo respiratorio a pesar de contribuir en la modulación de la fase inspiratoria: se ha demostrado que lesiones en esta área bulbar no provocan la abolición de la respiración, sino que únicamente alteran la amplitud de descarga del nervio frénico (Benito, 2014).

-El *grupo respiratorio ventral* (GRV) integra tanto a neuronas I y como a neuronas E, originando a lo que se conoce como el complejo pre-Bötzinger (pre-BÖTC), el cual desempeña un rol crítico en la generación del ritmo respiratorio (Nogués y Benarroch, 2011, Stuart, 2012) debido a que sus propiedades intrínsecas y las interacciones sinápticas de sus neuronas permiten mantener una actividad cíclica espontánea en forma de disparos de potenciales de acción (García et al., 2011). Un aspecto fundamental para la actividad del pre-BÖTC es la inervación recíproca: las neuronas motoras que llegan a los músculos espiratorios se inhiben cuando se activan las que inervan los músculos inspiratorios y viceversa (Barrett et al., 2010). Desafortunadamente, muchos mecanismos de la actividad oscilatoria del pre-BÖTC (especialmente los responsables de su ritmicidad) no se conocen del todo (Beltrán et al., 2012).

- b) Centro neumotáxico y apnéustico. Ambos localizados en la protuberancia anular, ayudan en la modulación de los centros respiratorios bulbares al promover la inspiración por estimulación de neuronas I (centro apnéustico) y a la espiración por la activación de neuronas E (centro neumotáxico), aunque ninguno de los dos participa directamente en la génesis del ritmo respiratorio (Stuart, 2014; García et al., 2011). No obstante, esas son las

funciones que se han observado en animales de experimentación, por lo que en humanos siguen sin conocerse sus funciones normales a profundidad (Barrett et al., 2010).

Finalmente, los *efectores* son todos los músculos respiratorios que son estimulados por la información transmitida por los controladores, con la finalidad de que la respiración ejerza su acción homeostática o conductual (García et al., 2011). Las motoneuronas del nervio frénico, las cuales estimulan al diafragma, tienen cuerpos celulares en el nivel cervical de la médula espinal; mientras que las neuronas que inervan a los músculos respiratorios de la caja torácica y el abdomen tienen cuerpos celulares en la región toracolumbar de la médula espinal (Stuart, 2014). La inervación de dichos músculos es recíproca, es decir, tanto la contracción como el incremento del tono son concomitantes con la relajación de sus antagonistas. En otras palabras, la contracción de los músculos inspiratorios determina simultáneamente la disminución del tono de los espiratorios y viceversa (Hall, 2016).

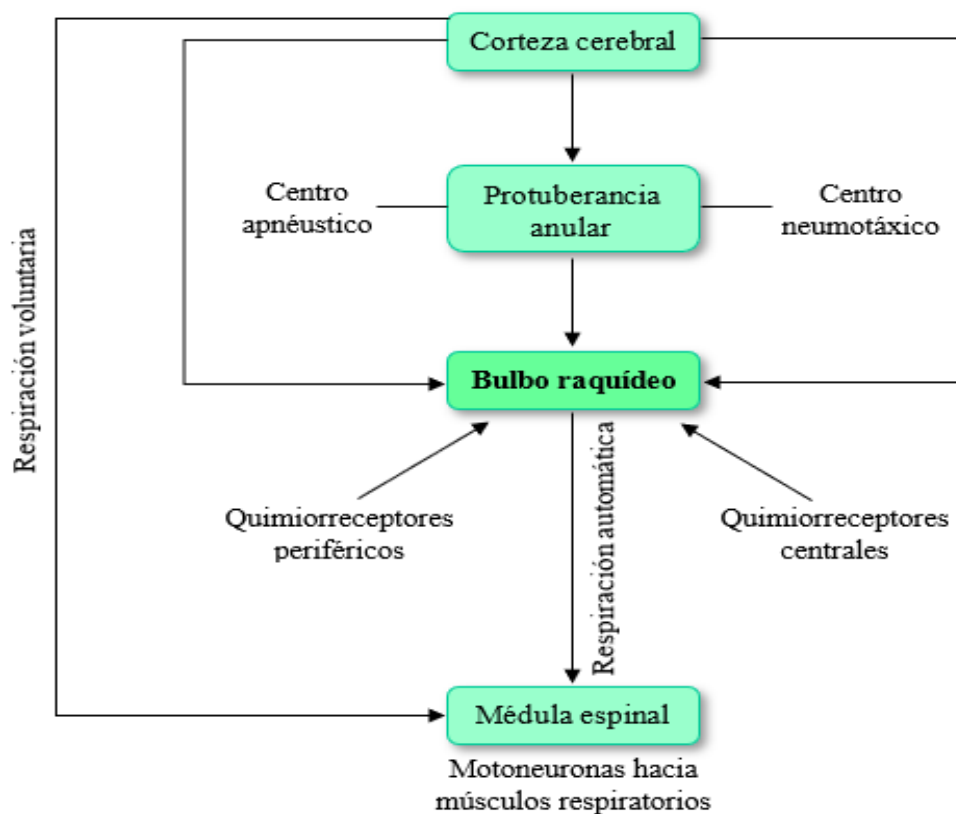


Figura 14. Mecanismos nerviosos reguladores de la ventilación. Modificado de “Regulación de la ventilación por el sistema nervioso central” por Stuart, I. F., 2014, *Fisiología humana*. McGraw-Hill Education, p. 555.

3.2 Hematosis

La difusión de gases tiene como objetivo permitir el intercambio gaseoso oxígeno-dióxido de carbono entre el aire alveolar y el eritrocito (Andrade y Bertrand, 2022). Lo anterior ocurre en la región alveolar, la cual posee más de 100 millones de capilares pulmonares dispuestos en una red tridimensional que abarca una superficie de aproximadamente 50 a 100m² en un adulto; mientras que su espesor en muchos sectores no llega a 0.3μm, lo que permite una eficiente difusión, siempre y cuando la ventilación sea adecuada (Dueñas et al., 2014). Las partes que conforman a la unidad alveolocapilar son el epitelio alveolar, el espacio intersticial, la membrana y el endotelio capilar (Dueñas et al., 2014).

Tanto el O₂ como el CO₂ difunden de forma pasiva y a favor de los gradientes de sus respectivas presiones parciales (Sánchez y Concha, 2018). Gracias al aire recién inspirado, la presión parcial de O₂ es mayor en los alvéolos (100 mmHg) que en los capilares pulmonares (40 mmHg), por lo que el O₂ pasa al interior de los capilares hasta que su presión parcial se iguale a ambos lados de la membrana alveolocapilar (Pérez y Fernández, 2015). Paralelamente, la difusión de CO₂ se realiza en sentido inverso: al ser mayor su presión parcial en los capilares (46 mmHg) que en los alvéolos (40 mmHg), el gas pasa por difusión hacia los alvéolos hasta que las presiones se igualen en los dos lados de la membrana alveolocapilar (Figura 15) (Reiriz, 2015; Pérez y Fernández, 2015).

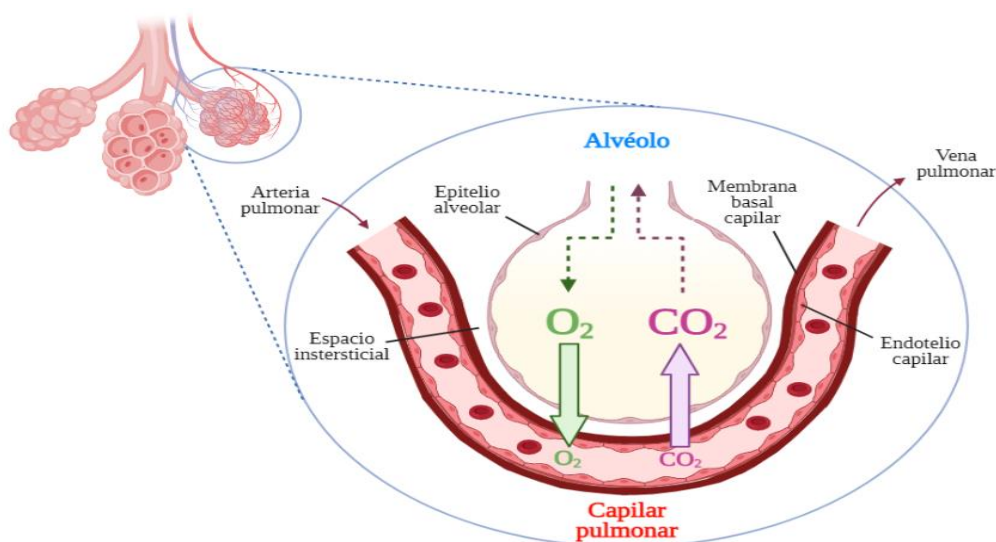


Figura 15. Intercambio gaseoso entre el O₂ y el CO₂ en la membrana alveolocapilar. Elaboración propia.

Los eritrocitos que llegan al alvéolo por el capilar pulmonar están en contacto con el mismo por alrededor de 0.75 segundos, aunque sólo se necesitan 0.3 segundos para que se produzca el pasaje de O₂ del alvéolo al capilar (Dueñas et al., 2014; Andrade y Bertrand, 2022). Sin embargo, para que el CO₂ difunda del capilar al alvéolo se necesita sólo una décima parte de ese tiempo, debido a que su coeficiente de difusión es 20 veces mayor que el del O₂. Esto significa que el pasaje de dióxido de carbono es mucho más rápido que el del oxígeno y, en caso de alguna patología que engrose la membrana alveolocapilar (fibrosis) o que disminuya su área total (enfisema), la difusión del O₂ se verá más comprometida que la del CO₂. Esa es la razón por la cual los trastornos respiratorios relacionados con el O₂ son más frecuentes en la práctica médica que los relacionados con el CO₂ (Andrade y Bertrand, 2022).

3.2.1 Circulación menor

Los eritrocitos que interactúan con la unidad alveolocapilar llegan a dicha zona gracias a la denominada circulación menor o circulación pulmonar (Figura 16), la cual es el circuito encargado de llevar la sangre procedente del corazón a los pulmones, y de éstos de vuelta al corazón (Universidad Veracruzana, 2012):

1. La circulación menor comienza por la llegada de sangre desoxigenada, recogida de todo el cuerpo por las venas cavas superior e inferior, a la aurícula derecha.
2. Posteriormente, la sangre entra al ventrículo derecho una vez que atraviesa la válvula tricúspide.
3. Desde el ventrículo derecho, la sangre sale por la arteria pulmonar y sus ramas derecha e izquierda, y es transportada a los pulmones.
4. Ambas arterias se dividen hasta dar lugar a los capilares pulmonares que se relacionan íntimamente con los alvéolos pulmonares, originando a la unidad alveolocapilar que realiza el intercambio de gases entre O₂ y CO₂.
5. De manera gradual, los capilares se hacen vénulas y venas de menor calibre cuyo contenido se reúne en dos venas pulmonares por cada pulmón.
6. Por último, la sangre oxigenada pasa a la aurícula izquierda y posteriormente al ventrículo izquierdo al cruzar la válvula mitral, completando el circuito propio de la circulación menor (Universidad Veracruzana, 2012; Pérez y Fernández, 2015).

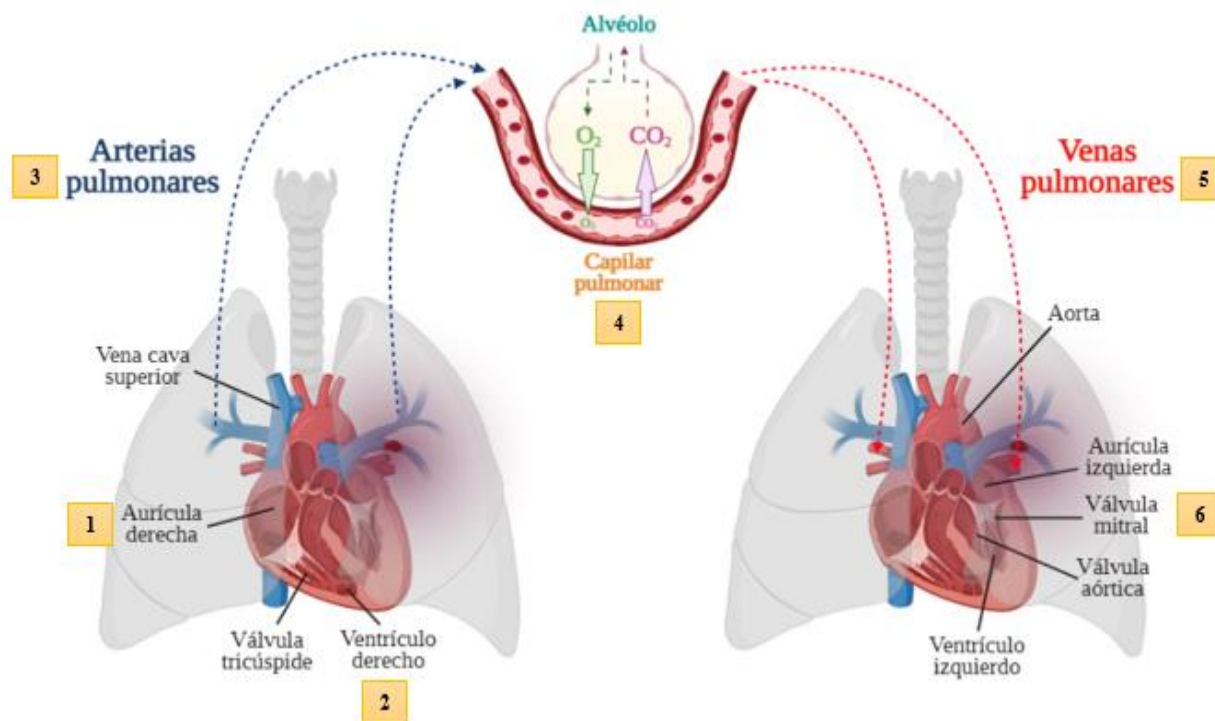


Figura 16. Circulación menor y su participación en el intercambio gaseoso. Elaboración propia.

3.3 Transporte de gases

Cuando se ha realizado la difusión de gases en la unidad alveolocapilar del pulmón y el oxígeno ha llegado al territorio sanguíneo, este debe alcanzar a todas las células del organismo para ser utilizado en las mitocondrias durante la respiración celular (Tresguerres, et al., 2010). De manera simultánea, el dióxido de carbono deberá efectuar el recorrido inverso, desde el interior del organismo hasta la región alveolar, para ser expulsado hacia la atmósfera. Para dicho proceso es preciso contar con un transportador rápido, suficiente, accesible y de bajo coste; nada mejor que el propio torrente sanguíneo y el aparato cardiovascular para tal función (Tresguerres, et al., 2010; Barrett et al., 2010). Si bien tanto el oxígeno como el dióxido de carbono pueden viajar por la sangre en su forma disuelta, gran cantidad de ambos gases (especialmente el oxígeno) se unen a la hemoglobina (Hb) para alcanzar sus respectivos destinos (Universidad Nacional del Nordeste, s.f.), aunque para ello también influyen aspectos como la calidad del intercambio gaseoso, el flujo sanguíneo de cada tejido, la capacidad de la sangre para transportar gases, la cantidad de gas disuelto y la concentración de hemoglobina sanguínea, entre otros (Barrett et al., 2010).

3.3.1 Hemoglobina

Alojada en los eritrocitos, la hemoglobina es una heteroproteína globular, de casi 5.5nm de diámetro y un peso molecular de 68,000 Dalton (Albaladejo, 2012), cuya estructura consta de cuatro cadenas polipeptídicas (dos cadenas α y dos cadenas β) llamadas *globinas* que están ligadas, cada una y mediante un enlace no covalente, a un grupo prostético en forma de disco llamado grupo *hem* (Stuart, 2014; Ahmed et al., 2020). El grupo hem es una molécula de porfirina que contiene dos grupos ácidos propiónicos, dos vinilos y cuatro metilos como cadenas laterales unidas a 4 anillos pirrólicos, todo denominándose en su conjunto como protoporfirina IX, la cual tiene en su centro a un átomo de hierro en su estado Fe^{2+} (Figura 17) (Ahmed et al., 2020).

Cada átomo de hierro del grupo hem es capaz de unirse de manera reversible al oxígeno, por lo que cada molécula de hemoglobina puede transportar en total cuatro moléculas de O_2 , formando a lo que se le conoce como *oxihemoglobina* ($Hb-O_2$) (Franco, 2010); mientras que a la hemoglobina disociada del O_2 (o desoxigenada) se le denomina *desoxihemoglobina* o *hemoglobina reducida* (Noriega, 2011). Considerando que hay en el cuerpo alrededor de 280 millones de moléculas de hemoglobina por cada eritrocito, cada uno de ellos puede transportar más de 1,000 millones de moléculas de oxígeno (Stuart, 2014).

Además de formar oxihemoglobina con la presencia de oxígeno, la hemoglobina también tiene otras propiedades que conviene tener en cuenta, como lo son:

- a) Transportar CO_2 (carbaminohemoglobina o $Hb-CO_2$), CO (carboxihemoglobina) y NO (Reiriz, 2015; Stuart, 2014).
- b) Dejarse glicosilar por la molécula de glucosa (hemoglobina glicosilada o HbA1c) (Albaladejo, 2012).
- c) Formar metahemoglobina cuando el hierro de los grupos hem pasa del estado ferroso al férrico (Fe^{3+}), la cual se liga de manera irreversible al oxígeno (Sepúlveda et al., 2020). Esta condición puede ser dada congénitamente o incrementada por el uso de algunos fármacos (Stuart, 2014; Albaladejo, 2012).
- d) Originar sulfohemoglobina al momento de interactuar con el ácido sulfhídrico, también por el consumo de fármacos y diversas sustancias (Albaladejo, 2012).

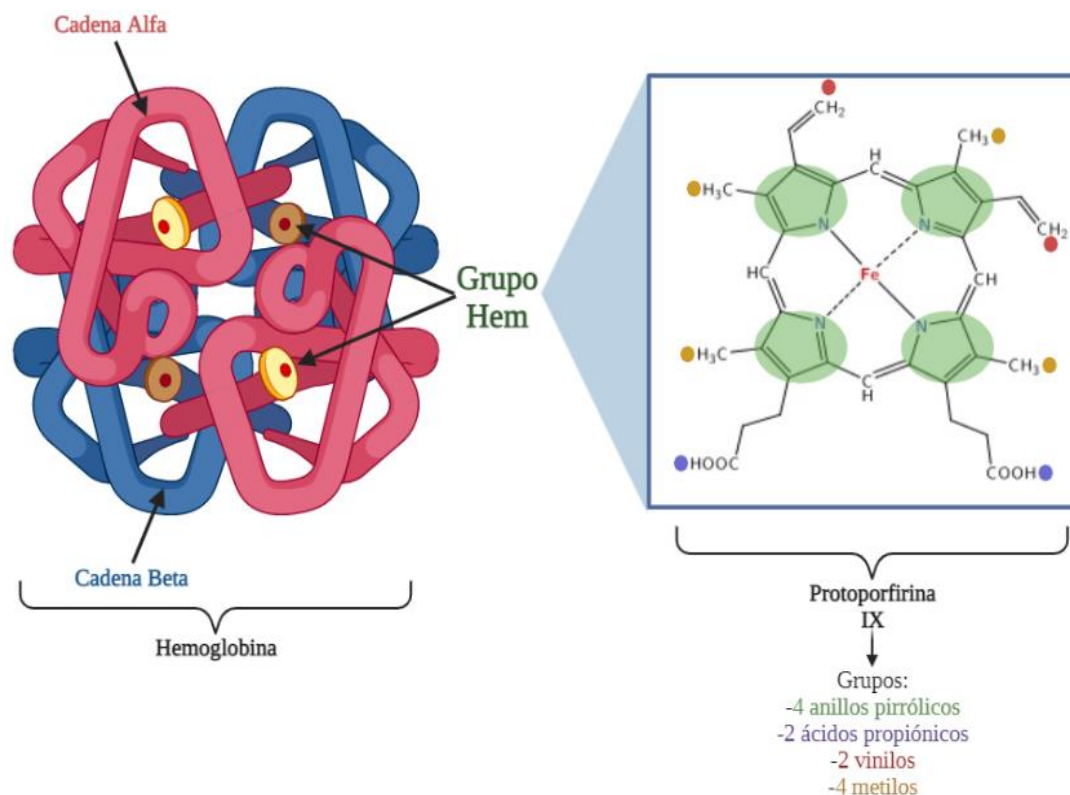


Figura 17. Estructura de la hemoglobina y de sus grupos hem. Elaboración propia.

3.3.2 Transporte de oxígeno

El O_2 disuelto en el plasma, con características apolares, constituye sólo una pequeña fracción del contenido total de oxígeno de la sangre (3%) y está en directa relación con la pO_2 según la Ley de Henry, la cual enmarca que cuanto mayor sea la presión parcial de un gas dentro de un líquido, mayor cantidad de gas se disolverá en él (Smilg y Tárraga, 2012; Tresguerres et al., 2010). No obstante, se sabe que la cantidad de O_2 disuelto en cada 100 mL de sangre es de 0.3 mL, volumen absolutamente insuficiente para los requerimientos metabólicos corporales (Raff y Levitzky, 2013). Es por ello por lo que el organismo cuenta con un transportador excelente como lo es la hemoglobina para movilizar al oxígeno a través de todo el aparato circulatorio, llegando a transportar cerca del 97% del gas en forma de oxihemoglobina (Noriega, 2011).

Un aspecto para considerar es que la estructura cuaternaria de la hemoglobina es la que determina la afinidad por el oxígeno (Barrett et al., 2010). En la desoxihemoglobina, las unidades globina se unen con fuerza en una *configuración tensa* (T) que reduce la afinidad por el oxígeno. No obstante, los enlaces que sostienen las unidades globina (en su mayoría enlaces iónicos y

puentes de hidrógeno) se liberan cuando se une el gas, ocasionando un cambio conformacional que genera una *configuración relajada* (R) en la ahora oxihemoglobina, la cual expone más sitios de unión con el oxígeno, logrando aumentar hasta 500 veces la afinidad hacia dicho gas (Barrett et al., 2010; Ríos-Tapia et al., 2013). Cabe decir que tanto la oxigenación como la desoxigenación de la hemoglobina son reacciones sumamente rápidas (0.01 segundos) y que la primera se basa en un mecanismo conocido como *cooperatividad positiva*, debido a que la entrada de una molécula de O₂ facilita y promueve la unión de las moléculas de O₂ siguientes (Alleva y Federico, 2013).

Otro término de importancia en el transporte de oxígeno es la saturación de la hemoglobina (sO₂), la cual se refiere a la proporción porcentual entre los sitios de unión disponibles en la hemoglobina y el contenido de oxígeno que se encuentra unido a ellos (Reiriz, 2015; Noriega, 2011). De manera teórica, si absolutamente todos los sitios de unión de todas las moléculas de hemoglobina estuvieran unidas al oxígeno se tendría una saturación del 100%. Sin embargo, en condiciones normales la sangre contiene pequeñas cantidades de derivados inactivos de la hemoglobina (como lo son la desoxihemoglobina, carboxihemoglobina y metahemoglobina), por lo que la saturación de la sangre arterial *in vivo* es de aproximadamente 97%, mientras que la sangre venosa satura al 75% (Stuart, 2014; Noriega, 2011; Barrett et al., 2010).

La relación entre la pO₂ y la saturación de la hemoglobina por el oxígeno se representa gráficamente mediante una curva de disociación (Figura 18), la cual es de forma sigmoideal debido a que la interconversión de las formas T-R no sigue un patrón lineal (Noriega, 2011; Barrett et al., 2010). La naturaleza sigmoide de la curva es de gran importancia fisiológica, ya que su porción casi vertical indica que pequeñas variaciones de la pO₂ causan cambios importantes en la saturación y por lo tanto, en el contenido de oxígeno; siendo en esta zona donde se efectúa el intercambio de dicho gas a nivel tisular, ya que al estar en presiones bajas, la hemoglobina se desatura y es capaz de entregar grandes cantidades de oxígeno al tejido (Viejo, 2013). De manera contraria, la porción casi horizontal de la gráfica indica que grandes cambios en la pO₂ apenas modifican el contenido de oxígeno en la sangre, lo cual explica que en pacientes con enfermedades pulmonares pueda ocurrir una alteración de la función pulmonar con caída importante de la pO₂ sin que se produzca desaturación arterial, pero una vez que la pO₂ baja más allá de la zona de transición, el contenido de O₂ puede descender rápidamente (Viejo, 2013).

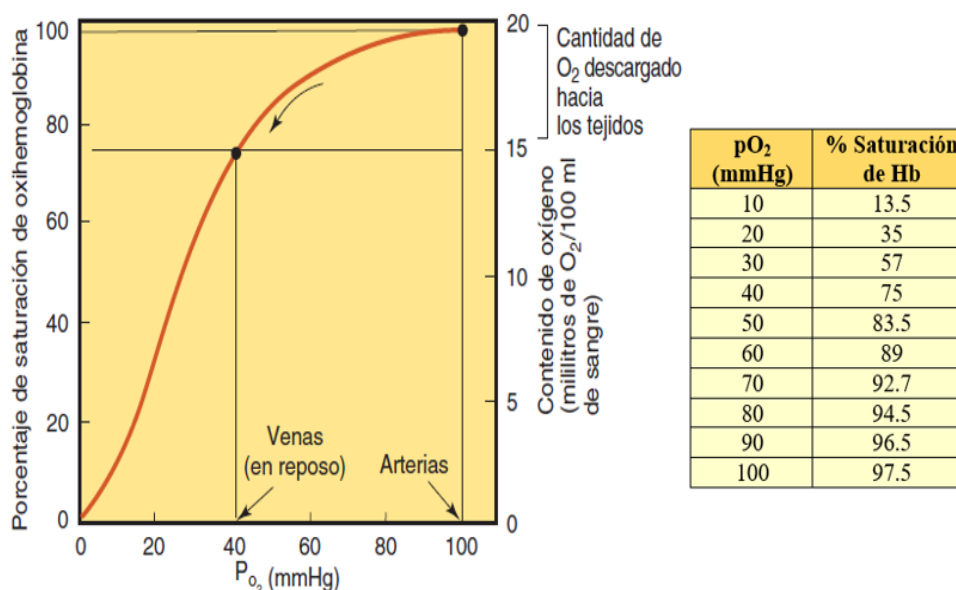


Figura 18. Curva de disociación de la hemoglobina. El cuadro insertado indica el porcentaje de hemoglobina saturada según la pO₂. Tomado de “Curva de disociación de la oxihemoglobina” por Stuart, I. F., 2014, *Fisiología humana*. McGraw-Hill Education, p. 561

Existen factores que desplazan la curva de disociación de la hemoglobina hacia una u otra dirección, manteniendo la forma sigmoide. Cuando la afinidad de la hemoglobina disminuye, la curva se desplaza hacia la derecha; mientras que cuando la curva se desplaza a la izquierda, la afinidad aumenta (Inclán-Rubio y Sampieri, 2021). Los factores de mayor importancia son la temperatura, la presión de CO₂, el pH (conocido como *efecto Bohr*) y la concentración del metabolito 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG), a raíz de que el aumento de cualquiera de éstos (generalmente por efecto del metabolismo celular) desplaza la curva hacia la derecha, disminuyendo la afinidad de la hemoglobina por el O₂ y por ende, facilitando la entrega del gas (Álvarez-Sala, 2015).

3.3.3 Transporte de dióxido de carbono

En condiciones normales, en reposo, 100 mL de sangre desoxigenada contienen alrededor de 53 mL de CO₂ gaseoso, producto del metabolismo celular aerobio realizado en las mitocondrias (Tortora y Derrickson, 2013) y que es transportado por la sangre en 3 formas principales:

- Disuelto en el plasma (cerca del 7%). Rigiéndose por la Ley de Henry al igual que el oxígeno, aunque con la diferencia de que las cantidades de CO₂ son comparativamente mayores al ser un gas 20 veces más soluble (Tortora y Derrickson, 2013; Noriega, 2011).

- b) A través de compuestos carbamínicos (23%). El CO_2 se combina con los grupos amino terminales de las proteínas plasmáticas, especialmente a la hemoglobina al ser la proteína mayoritaria en la matriz sanguínea (encontrándose alojada dentro de los eritrocitos) para formar carbaminohemoglobina (Tortora y Derrickson, 2013; Noriega, 2011). Cabe tener en cuenta que dicha reacción reversible es rápida y no requiere catalizador alguno, aunque sí es facilitada por la presencia de hidrogeniones que disminuyen la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno (Reiriz, 2015).
- c) En forma de ion HCO_3^- (70%). El CO_2 que difunde a los eritrocitos se hidrata velozmente para formar ácido carbónico (H_2CO_3) por la abundancia de la enzima anhidrasa carbónica (AC) (Barrett et al., 2010). Posteriormente, dicho ácido se disocia en H^+ y HCO_3^- en una reacción reversible, haciendo que el hidrogenión se amortigüe por la acción de la hemoglobina (Hb-H) mientras el bicarbonato ingresa al plasma a favor del gradiente de concentración, intercambiándose por iones Cl^- que se desplazan a su vez desde el plasma hacia los eritrocitos para mantener el equilibrio eléctrico entre ambas regiones, proceso denominado como *desviación de cloruro* o *efecto Hamburger* y que es mediado por el intercambiador aniónico 1 (AE1) (Barrett et al., 2010; Tortora y Derrickson, 2013; Reiriz, 2015).

3.3.4 Intercambio gaseoso a nivel tisular

Los procesos de transporte e intercambio de O_2 y CO_2 en la sangre siguen una dirección inversa y se desarrollan fundamentalmente en el interior del eritrocito (Tresguerres et al., 2010). Resulta importante recalcar que el proceso de intercambio se produce por diferencias de presión entre el exterior y el interior tanto de las células tisulares como de los hematíes (Pérez y Fernández, 2015). Por un lado, la $p\text{O}_2$ es mayor en los glóbulos rojos que en las tisulares debido a que éstas últimas ocupan al gas en la respiración celular, por lo que se facilita la difusión pasiva del oxígeno a través del espacio intersticial desde los capilares hasta todos los tejidos corporales. Por último, el proceso del intercambio de CO_2 también se rige por una diferencia en la presión parcial de dicho gas, con la diferencia en que la $p\text{CO}_2$ en los tejidos es mayor que en las células sanguíneas, lo que facilita su difusión pasiva hacia el torrente circulatorio (Pérez y Fernández, 2015).

Sustancialmente y en resumen de lo anterior, los distintos eventos en el intercambio gaseoso sangre-tejido (Figura 19) son:

1. El CO_2 proveniente del metabolismo de las células tisulares difunde pasivamente hacia los eritrocitos, aunque una parte irá libre en el plasma sanguíneo.
2. Dentro de los eritrocitos, el CO_2 es hidratado por la anhidrasa carbónica para formar H_2CO_3 , el cual posteriormente se disociará en H^+ y HCO_3^- . El bicarbonato deberá salir del eritrocito hacia el plasma, a la par de que ingresan iones Cl^- (desviación de cloruro).
3. Paralelamente, el oxígeno, tanto el disuelto en el plasma como el presente en la Hb-O_2 , difunde pasivamente a las células tisulares para llegar directamente a las mitocondrias y participar en la respiración celular. Esto es apoyado tanto por el gradiente de presión como por la acidificación del medio (ocasionado por el aumento de H^+) que influye negativamente en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, haciendo que sea más sencillo de liberar (efecto Bohr).
4. La ahora desoxihemoglobina participa tanto en la amortiguación de los protones excedentes (Hb-H) como en el transporte de CO_2 al formar Hb-CO_2 y ser llevado hacia la región alveolar, a la par de que también promueve la separación de la Hb-O_2 (Barrett et al., 2010; Tortora y Derrickson, 2011; Noriega, 2011).

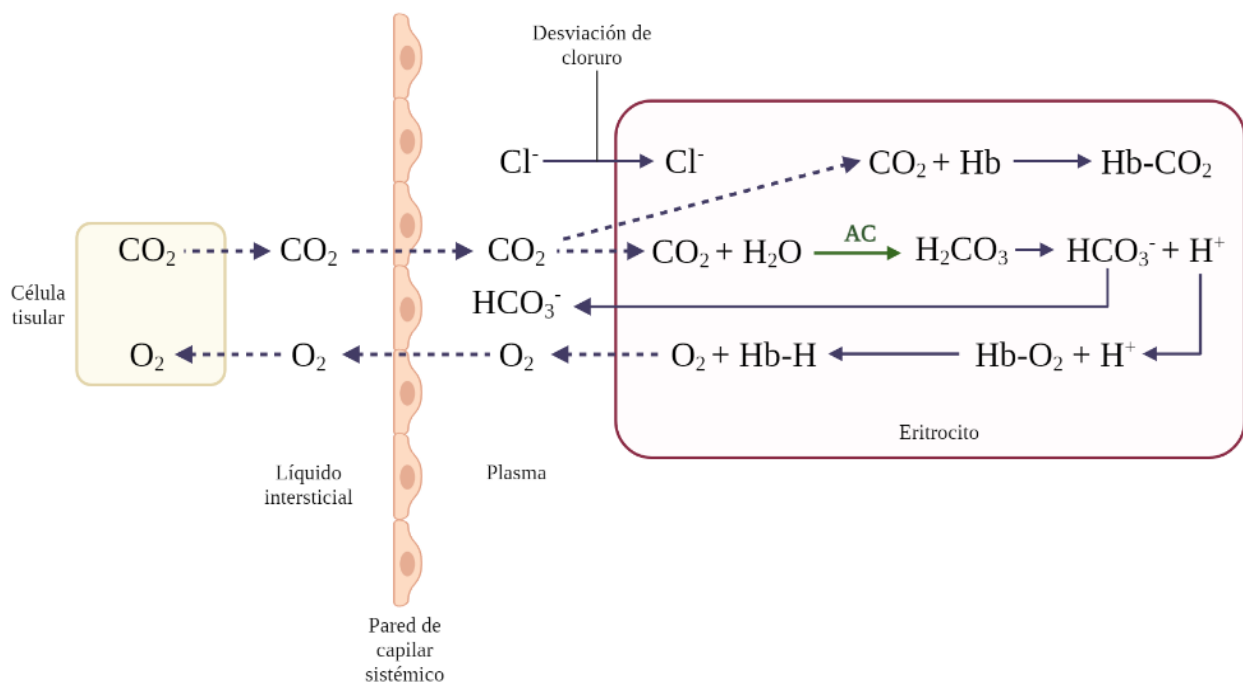


Figura 19. Intercambio gaseoso a nivel tisular. Modificado de “Transporte de gases en el eritrocito” por Tortora, G. J., y Derrickson, B., 2013, *Principios de anatomía y fisiología*. Editorial Medica Panamericana, p. 951.

3.3.5 Intercambio gaseoso a nivel alveolar

Posteriormente, cuando la sangre pobre en oxígeno llega a la región pulmonar, la $p\text{CO}_2$ de los alvéolos es más baja que la $p\text{CO}_2$ de la sangre proveniente de todos los tejidos del cuerpo, ocasionando que el CO_2 difunda desde el plasma hacia el interior de los alvéolos para que sea finalmente eliminado del cuerpo mediante la espiración (Reiriz, 2015). En forma simultánea, el O_2 recién inspirado difunde desde el aire alveolar hacia los eritrocitos y se une a la hemoglobina para formar Hb-O_2 , transportando así al oxígeno hacia todas las células del organismo (Tortora y Derrickson, 2011).

Los eventos del intercambio gaseoso sangre-alvéolo (Figura 20), muy similares a los descritos a nivel tisular, pero ahora en sentido inverso, son:

1. Cuando la sangre atraviesa los capilares pulmonares, las moléculas de CO_2 disueltas en el plasma y las ahora disociadas de la hemoglobina difunden hacia la región alveolar debido al gradiente de presiones parciales que existe entre ambos lados de la membrana alvéolo-capilar.
2. Simultáneamente, el oxígeno difunde hacia los capilares sanguíneos y elevan la $p\text{O}_2$ en esta zona, la cual favorece la afinidad de la hemoglobina hacia dicho gas y propicia así la formación de Hb-O_2 ; a la par de que el incremento de la $p\text{O}_2$ también reduce la afinidad de la hemoglobina por el CO_2 , provocando la disociación de la Hb-CO_2 presente dentro de los eritrocitos (*efecto Haldane*).
3. La unión del O_2 a la hemoglobina propicia que los protones que ésta amortiguaba se liberen y se unan al ion HCO_3^- que entraba y era alojado en los hematíes, formando H_2CO_3 . Cabe mencionar que para mantener el equilibrio eléctrico, un ion Cl^- sale por cada HCO_3^- que entra (*desviación de cloruro inversa*).
4. La anhidrasa carbónica cataliza al H_2CO_3 para formar CO_2 (que es también espirado desde la región alveolar) y agua.

De esta forma, el O_2 inhalado es transportado a todo el cuerpo y el CO_2 es eliminado, volviendo a iniciar cíclicamente el intercambio gaseoso tanto a nivel tisular como alveolar (Barrett et al., 2010; Tortora y Derrickson, 2011; Noriega, 2011).

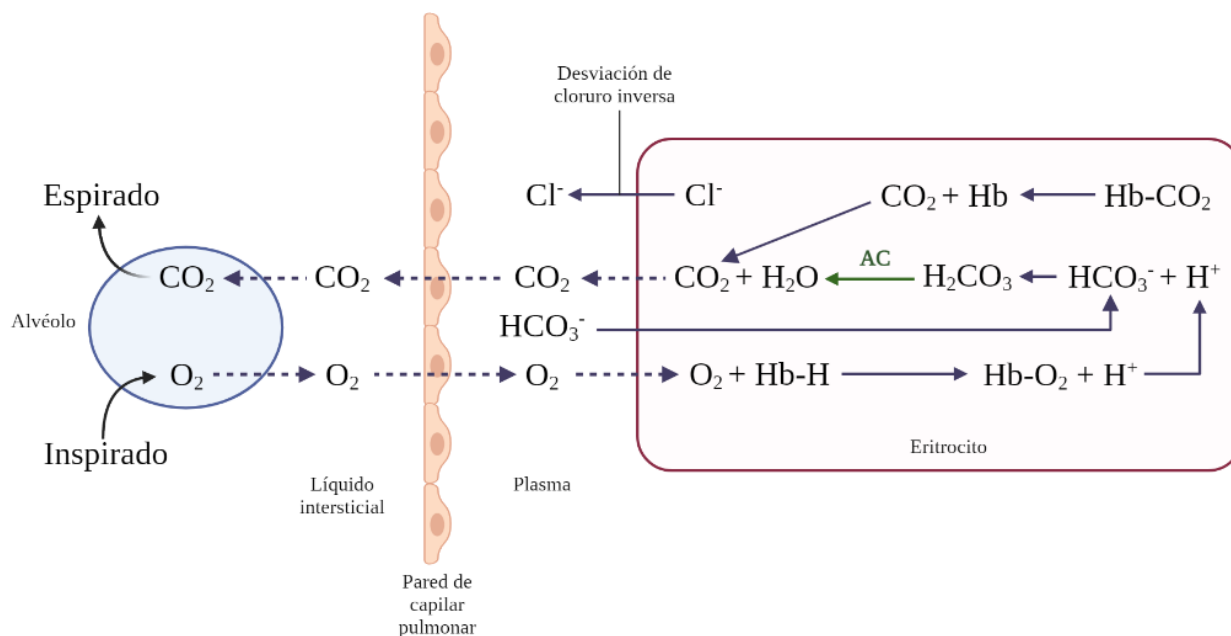


Figura 20. Intercambio gaseoso a nivel alveolar. Modificado de “Transporte de gases en el eritrocito” por Tortora, G. J., y Derrickson, B., 2013, *Principios de anatomía y fisiología*. Editorial Medica Panamericana, p. 951.

4. Hipoxia

Tal como se describió en los capítulos anteriores, la función fundamental de los aparatos circulatorio y respiratorio es el suministro de O_2 a las células y la eliminación paralela del CO_2 . Por ello, la conservación adecuada de tal función depende de la integridad de dichos aparatos, de concentraciones adecuadas de eritrocitos y hemoglobina, y de niveles suficientes de oxígeno en el aire que se inspira (Kasper et al., 2016), por lo que una alteración en cualquiera de estos niveles puede causar *hipoxia*, la cual se define como una deficiencia de O_2 en la sangre, células y tejidos del organismo, la cual que impide el funcionamiento celular normal (Bhutta et al., 2022; Chen et al., 2020; Tortora y Derrickson, 2011). Es importante mencionar que el término de hipoxia es más adecuado que *anoxia*, ya que rara vez hay ausencia completa de oxígeno en los tejidos (Barrett et al., 2010); mientras que el término *normoxia* hace alusión a cuando los niveles de oxigenación en los tejidos son los adecuados (Chen et al., 2020).

Aunque se han usado muchas otras clasificaciones, la hipoxia se divide habitualmente en cuatro tipos principales (Barrett et al., 2010):

1. Hipoxia hipóxica: se presenta cuando existe una disminución en la pO_2 , sO_2 o en el contenido arterial de oxígeno (CaO_2). Se presenta en individuos que vivan en grandes

altitudes y/o que presenten alteraciones en la difusión alvéolo-capilar, obstrucciones en la vía aérea o líquido en los pulmones.

2. Hipoxia anémica: se produce por una disminución aguda y crítica de los niveles de hemoglobina o de su capacidad de transportar O₂. Entre sus causas se pueden mencionar la hemorragia, anemia y alteraciones puntuales en la hemoglobina, como sucede en las intoxicaciones por monóxido de carbono.
3. Hipoxia isquémica: también llamada hipoxia circulatoria, de estasis o de estancamiento, es aquella que es producto de una disminución abrupta del flujo sanguíneo tisular, a pesar de que la pO₂ y los niveles de Hb-O₂ sean normales. La insuficiencia cardíaca y el shock cardiogénico son las patologías más frecuentes que llevan a este tipo de hipoxia.
4. Hipoxia citopática o citotóxica: en este tipo de hipoxia existe una alteración de la respiración celular que impide la utilización del O₂, aún cuando se tiene una correcta pO₂. Los mecanismos involucrados en el desarrollo de hipoxia citopática tienen que ver con la inactivación de la piruvato deshidrogenasa, producción de óxido nítrico, producción de ion superóxido y peroxinitrito, desacople de la fosforilación oxidativa y activación de enzimas nucleares, tal como sucede con la presencia de algún agente tóxico como lo son los metales pesados o el cianuro (Crosara, 2015; Tortora y Derrickson, 2011).

Normalmente, las respuestas hipóxicas cesan cuando se establezca el nivel de oxígeno. Sin embargo, la situación se complica si persiste estrés hipóxico (hipoxia crónica) o si se produce un fenómeno cíclico de normoxia-hipoxia (hipoxia intermitente) (Chen et al., 2020).

4.1 Alteraciones celulares inducidas por hipoxia

El descenso en la disponibilidad de O₂ para las células (menos del 2% en comparación del estado fisiológicamente normal) inhibe la fosforilación oxidativa y aumenta la glucólisis anaeróbica. Este cambio del metabolismo aeróbico al anaeróbico mantiene la producción de ATP, aunque a niveles reducidos (Mondragón, 2016; Chen et al., 2020). En la hipoxia grave, cuando la producción de ATP es insuficiente para satisfacer las necesidades de energía para mantener el equilibrio iónico y osmótico, se afecta precozmente la bomba Na⁺/K⁺ dependiente de ATP, permitiendo que el Na⁺ se acumule en el compartimiento intracelular, atrayendo agua y edemizando a la célula (Crosara, 2015). Además, la despolarización acentuada de la membrana celular permite la entrada descontrolada de Ca²⁺ y la subsecuente activación de fosfolipasas y

proteasas dependientes de este ion (como calpaínas y catepsinas) que junto a una disfunción mitocondrial ocasionada por la apertura del poro de permeabilidad mitocondrial (MPT) y aumento de ERO ocasionaría muerte celular tanto por necrosis como por apoptosis (Figura 21) (Kasper et al., 2016; Carranza-Aguilar et al., 2020; Mondragón, 2016).

No obstante, se debe tener en consideración que el daño secundario relacionado con la hipoxia no será de la misma magnitud en todos los órganos y que dependerá del tiempo de insaturación (agudo o crónico) y de las necesidades metabólicas intrínsecas del tejido (Crosara, 2015). Aunque la hipoxia leve puede causar problemas menores como depresión de la actividad mental a nivel de SNC en forma de alteraciones en el criterio y en la coordinación motora (Kasper et al., 2016; Hall, 2016), se sabe que mientras la hipoxia se agrava puede inclusive jugar un papel crítico en la patogénesis de algunas de las principales causas de mortalidad a nivel mundial, incluyéndose el cáncer, la isquemia cardíaca, la insuficiencia respiratoria y coma por depresión en los centros reguladores del tallo encefálico, trastornos neurológicos, envejecimiento, las enfermedades metabólicas e infecciosas, las enfermedades crónicas del corazón, riñones, de naturaleza inflamatoria y aquellas relacionadas con la reproducción, como lo son la preeclampsia y la endometriosis (Yeo, 2019; Chen et al., 2020).

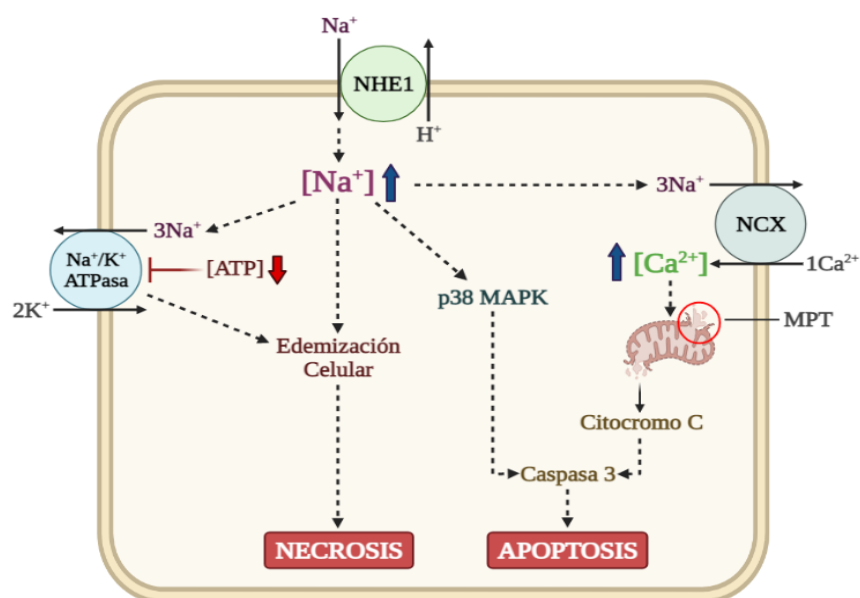


Figura 21. Mecanismos puntuales de la muerte celular inducida por hipoxia. Modificado de “Some possible mechanisms linking severe hypoxia/reperfusion to cell death by necrosis and apoptosis/PCD via activation of NHE1” por Pedersen, S. F., 2006, *The Na⁺/H⁺ exchanger NHE1 in stress-induced signal transduction: implications for cell proliferation and cell death.*

<https://dx.doi.org/10.1007/s00424-006-0044-y>

4.2 Adaptación celular hacia la hipoxia

Debido a las funciones críticas del oxígeno en la respiración, el metabolismo y la supervivencia, los organismos eucariotas, incluido el humano, han desarrollado un sistema de detección rápido y eficiente que aseguran la irrigación de O₂ a través de una serie de mecanismos fisiológicos y bioquímicos (Koolman y Röhm, 2012; Chen et al., 2020). En el ser humano, tanto los quimiorreceptores centrales como los periféricos detectan la reducción de la tensión de oxígeno y envían señales al centro respiratorio en la médula del tronco encefálico y la protuberancia anular mediante la liberación de neurotransmisores (López-Barneo et al., 2016) para iniciar así una serie de procesos que favorecen la ventilación pulmonar y al gasto cardíaco, asegurando el mantenimiento de las funciones normales del cuerpo al aumentar la actividad neural simpática que garantice un mayor suministro de sangre arterial y sistémica hacia todas las células del cuerpo (Jordan et al., 2014).

Por otro lado, todas las células nucleadas del organismo pueden detectar las concentraciones de oxígeno de una de dos formas distintas: mediante alteraciones de proteínas preexistentes (a través de fosforilaciones o variaciones en el estado redox), lo cual ocurre principalmente en respuesta a la hipoxia aguda (en minutos); mientras que las alteraciones en la expresión génica ocurren en su mayoría en respuesta a la hipoxia crónica (que van de minutos a horas y más) (Chen et al., 2020). Las adaptaciones genéticas a la hipoxia están mediadas por la regulación en el aumento de los genes que codifican diversas proteínas, incluidas enzimas glucolíticas (fosfoglicerato cinasa, fosfofructocinasa), transportadores de glucosa (GLUT-1 y GLUT-2) y factores de crecimiento como el factor de crecimiento endotelial vascular (*vascular endothelial growth factor* o VEGF) y la eritropoyetina, la cual intensifica la producción de eritrocitos (Kasper et al., 2016). Estas respuestas hipóxicas (Figura 22) están controladas por *factores inducibles por hipoxia* o HIF, los cuales se encargan de inducir la expresión de varios genes adaptativos para aumentar el suministro de oxígeno y apoyar la generación anaeróbica de ATP en células eucariotas (Yeo, 2019).

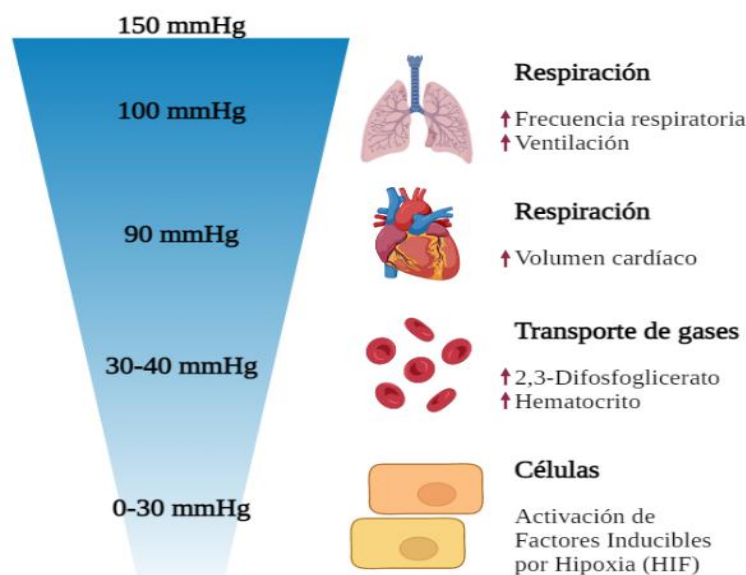


Figura 22. Adaptaciones del organismo frente a la hipoxia. Modificado de “Posibilidades de compensación” por Koolman, J., y Röhm, K, H., 2012, *Bioquímica Humana. Texto y Atlas*. Editorial Medica Panamericana, p. 127.

4.2.1 Factores inducibles por hipoxia (HIF)

Los miembros de la familia HIF en humanos (HIF-1, HIF-2 e HIF-3) son factores de transcripción heterodiméricos, donde cada uno se compone de una subunidad α y una β (también denominada translocador nuclear del receptor de aril hidrocarburo o ARNT); aunque las respuestas celulares y de desarrollo a la hipoxia están mediadas principalmente por la isoforma HIF-1 α , codificada por el gen HIF1A y pudiendo ser expresada por prácticamente todos los tejidos humanos, por lo que ha sido la más ampliamente estudiada y caracterizada, tanto estructural como funcionalmente (Yeo, 2019; Chen et al., 2020). Por otro lado, las isoformas HIF-2 α e HIF-3 α se expresan en tejidos más restringidos y en etapas de desarrollo del endotelio vascular y del pulmón fetal, desempeñando funciones más limitadas o especializadas en la homeostasis del oxígeno (Masoud y Li, 2015; Zimna y Kurpysz, 2015). Por último, se sabe que los niveles de HIF-2 e HIF-3 aumentan tardíamente cuando los niveles de HIF-1 disminuyen, sobre todo en hipoxias crónicas (Koh y Powis, 2012).

Aunque el gen HIF1A se expresa constitutivamente a niveles bajos en condiciones normóxicas, el HIF-1 α que se sintetiza *de novo* está regulado por hidroxilación (Dzhalilova y Makarova, 2020), proceso realizado en residuos de prolina por prolihdroxilasas (PHD1, PHD2 y

PHD3) y en residuos de asparagina a través del factor inhibidor de HIF (FIH), utilizando O₂ como sustrato (Badawi y Shi, 2017).

- a) Las PHD, en especial PHD2 que es la enzima más predominantemente expresada, hidroxilan dos residuos de prolina de las subunidades HIF-1 α , desencadenando su identificación por el complejo de ubiquitina ligasa E3 formado por la proteína pVHL (proteína supresora de tumores von Hippel-Lindau), elonginas B y C, culina 2 y proteínas RING-Box 1 (Dzhalilova y Makarova, 2020; Yeo, 2019); siendo la pVHL la que funciona como la interfaz de acoplamiento de sustrato que reconoce específicamente a la HIF-1 α prolihdroxilado (Masoud y Li, 2015), promoviendo su degradación a través del proteasoma común 26S. (Badawi y Shi, 2017)
- b) El FIH, del cual sólo se conoce una isoforma (Dzhalilova y Makarova, 2020), se encarga de hidroxilar el residuo de asparagina en el dominio de transactivación C-terminal de HIF-1 α , previniendo el reclutamiento de la proteína de unión a CREB (CBP) y de su homólogo llamado coactivador transcripcional histona acetiltransferasa (p300), inhibiendo así su actividad transcripcional (Chen et al., 2020).

Sin embargo, en condiciones hipóxicas donde el oxígeno se encuentra por debajo del 3-5% (Sena y Chandel, 2013), HIF-1 α sí es capaz de efectuar transcripciones génicas (Figura 23) debido a que:

- a) La insuficiencia de oxígeno inhibe la actividad de las PHD, por lo que la hidroxilación se debilita y se evita que HIF-1 α sea degradado por proteínas dependientes de pVHL, (Chen et al., 2020) De esta forma, HIF-1 α se estabiliza y acumula en el citoplasma, siendo capaz de translocarse al núcleo para posteriormente dimerizarse con la subunidad HIF-1 β (Dzhalilova y Makarova, 2020; Sena y Chandel, 2013). Así, el dímero HIF-1 α/β se une a los elementos de respuesta a la hipoxia (HRE) situados ya sea en la región promotora o potenciadora de genes sensibles a la hipoxia, induciendo así su transcripción (Badawi y Shi, 2017).
- b) Hay una supresión en la actividad de FIH bajo hipoxia, dando como resultado un aumento del reclutamiento de CBP/p300, mejorando así la transcripción de los genes diana de HIF (Chen et al., 2020).

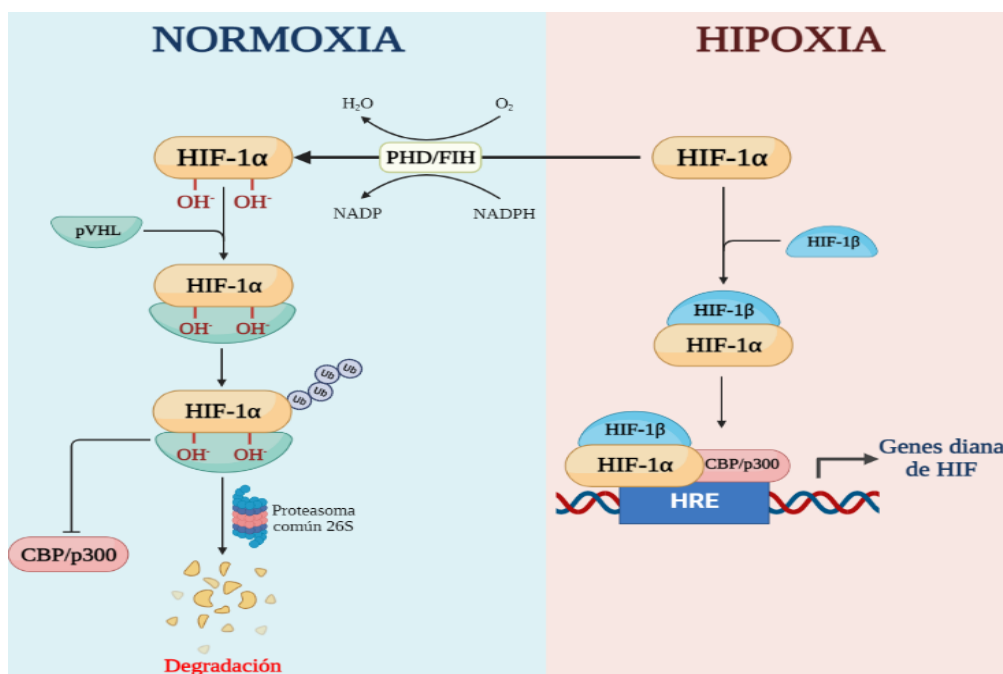


Figura 23. Interacciones de HIF-1 α en condiciones normóxicas e hipóxicas. Modificado de “Efecto del HIF-1 α ” por Koolman, J., y Röhm, K. H., 2012, *Bioquímica Humana. Texto y Atlas*. Editorial Medica Panamericana, p. 127.

De esta forma, HIF induce la transcripción de más de 100 genes implicados en diversos procesos biológicos (Masoud y Li, 2015). Así, HIF tiene influencia en:

- La expresión de varios factores proangiogénicos, incluido VEGF, los cuales promueven la formación de nuevos vasos sanguíneos y el suministro de oxígeno a las regiones hipóxicas.
- La regulación positiva de la eritropoyetina que aumenta el transporte de oxígeno al mejorar la eritropoyesis.
- La estimulación de la captación de glucosa y de la glucólisis anaeróbica al aumentar la expresión de los transportadores de glucosa y de varias enzimas glucolíticas, incluidas las hexocinasas.
- El aumento en la conversión de piruvato a lactato al incrementar la piruvato cinasa y la lactato deshidrogenasa.
- La salida de ácido láctico por el transportador de monocarboxilato y la conversión de CO₂ en H₂CO₃ por la anhidrasa carbónica para contrarrestar la acidosis intracelular.
- La proliferación y supervivencia celular modulando la expresión de genes MYC, factor de crecimiento a la insulina 2 y otros componentes del ciclo y las vías de muerte celular (Zimna y Kurpisz, 2015; Yeo, 2019).

5. Músculo liso vascular

Aunque el músculo liso constituye las paredes de casi todos los órganos huecos del cuerpo, exceptuando el corazón, su función y regulación contráctil varían dependiendo del órgano del que es parte y la función específica que éste realiza (Raff y Levitzky, 2013). En el caso de los vasos sanguíneos, las células del músculo liso vascular (CMLV) conforman la pared vascular junto con células endoteliales y fibroblastos, cuya función principal es la de regular la presión arterial, el tono vascular, el aporte sanguíneo de los tejidos y la permeabilidad capilar a través de ciclos involuntarios de contracción-relajación muscular (Aiello, 2018; Consolini y Ragone, 2017), los cuales son el resultado de la interacción dinámica que existe entre los demás componentes celulares de la pared vascular (principalmente el endotelio), la innervación motora visceral (porción simpática) y los componentes humorales que interactúan desde la luz vascular (Consolini y Ragone, 2017).

5.1 Contracción-Relajación

Las CMLV cuentan con un mecanismo de contracción (Figura 24) que se basa, principalmente, en un aumento de Ca^{2+} intracitoplasmático:

1. El incremento de Ca^{2+} libre puede deberse ya sea por un mayor ingreso del ion hacia el espacio intracelular a través de canales de calcio transmembranales o por su liberación desde los depósitos internos alojados en el retículo sarcoplásmico y la mitocondria.
2. Las altas concentraciones de Ca^{2+} en el citosol posibilitan su unión a una proteína llamada calmodulina, creando el complejo Calcio-Calmodulina (CaM).
3. El complejo CaM activa, a su vez, a la cadena ligera de miosina cinasa (MLCK), una enzima capaz de fosforilar a las cadenas ligeras de miosina (MLC) localizadas en la cabeza de la miosina, en presencia de ATP.
4. La fosforilación de las MLC conduce a la formación de puentes cruzados entre las cabezas de miosina y los filamentos de actina, permitiendo la contracción del músculo liso.
5. Por otro lado, la relajación de las CMLV ocurre cuando decrece la fosforilación de las MLC debido a una reducción en el ingreso y/o en la liberación del Ca^{2+} intracitoplasmático, por la inhibición de la MLCK dada por PKA/PKG o por desfosforilación directa de las MLC mediante la enzima cadena ligera de miosina fosfatasa (Klabunde, 2019; Raff y

Levitzky, 2013; Ets et al., 2016; Boron y Boulpaep, 2017). Por último, se debe resaltar el hecho de que el equilibrio entre la fosforilación y desfosforilación es importante en la regulación de la tensión del músculo liso porque la cinasa y la fosfatasa siempre están activas (Raff y Levitzky, 2013).

Aunque el mecanismo contráctil del músculo liso vascular tiene similitudes respecto al músculo esquelético y cardíaco, como el hecho de que la contracción de los tres tipos de músculo inicia con un incremento de Ca^{2+} que va desde niveles basales de 10^{-7} M hasta aproximadamente 10^{-5} M (Consolini y Ragona, 2017), también existen diferencias importantes entre ellos. Por ejemplo, el músculo liso vascular experimenta contracciones lentas y sostenidas, mientras que en el músculo cardíaco son rápidas y de duración relativamente corta (Klabunde, 2019); además de que las CMLV tienen un potencial de membrana inestable al presentar fluctuaciones rítmicas de características variables de un tejido a otro, aspecto que es diferente en el músculo esquelético (Belmar, 2018). Otras diferencias puntuales se enlistan en la tabla 7.

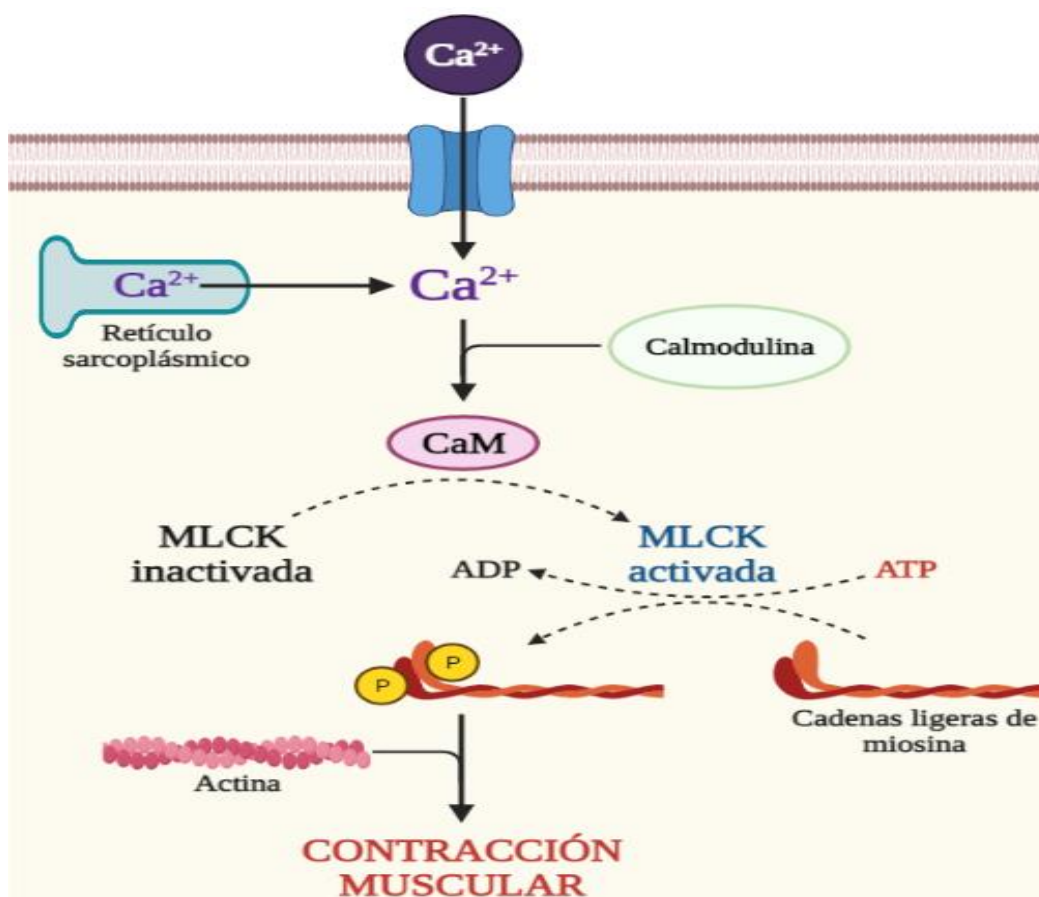


Figura 24. Mecanismo de contracción en el músculo liso vascular. Elaboración propia.

Tabla 7. Comparativa de las propiedades entre los tipos musculares (Boron y Boulpaep, 2017).

	Esquelético	Cardíaco	Liso
Mecanismo de excitación	Transmisión neuromuscular	Despolarización del marcapasos, propagación electrónica a través de uniones de hendidura	Transmisión sináptica, receptores activados por agonistas, acoplamiento eléctrico, potenciales del marcapasos
Actividad eléctrica de la célula muscular	Espigas del potencial de acción	Mesetas del potencial de acción	Espigas y mesetas del potencial de acción, cambios escalonados en el potencial de membrana, ondas lentas
Sensor de Ca ²⁺	Troponina C	Troponina C	CaM
Duración de la contracción	20-200 milisegundos	200-400 milisegundos	200 milisegundos, mantenida
Regulación de la fuerza	Frecuencia y sumación multifibra	Regulación de la entrada de calcio	Equilibrio entre fosforilación y desfosforilación de MLCK
Metabolismo	Oxidativo, glucolítico	Oxidativo	Oxidativo

5.2 Señales que influyen en el músculo liso vascular

Una de las particularidades más importantes del músculo liso vascular radica en que es capaz tanto de contraerse como de relajarse activamente como respuesta a una gran diversidad de señales endógenas, englobándose numerosos estímulos neuronales, hormonales, químicos o incluso físicos (Rhoades y Bell, 2018), los cuales participan en el influjo de Ca²⁺ desde el espacio extracelular o en la liberación de este desde el retículo sarcoplásmico (Consolini y Ragone, 2017). Algunos de los mecanismos que son capaces de modular directa o indirectamente el grado de contracción de las CMLV, ocasionando una vasoactividad, son:

- a) La regulación miogénica que tiene lugar cuando existe un estiramiento en la membrana de las CMLV que activa a canales catiónicos no selectivos sensibles al estiramiento, ocasionando una despolarización que desencadena el modo de contracción de las células.
- b) Acción directa por estímulos químicos procedentes principalmente de la pO₂, la pCO₂ y el pH intersticial, aunque también son capaces de involucrarse las concentraciones locales de

K^+ , ácido láctico, ATP, ADP y adenosina. La acción directa es modulada a través de sistemas de segundos mensajeros como el Ca^{2+} , AMPc y GMPc.

- c) Activación de canales de Ca^{2+} operados por voltaje, siendo el de tipo L el que más relevancia posee.
- d) Activación de canales ionotrópicos.
- e) Inervación nerviosa autónoma simpática y endócrina, ocasionando que las contracciones sean meramente involuntarias (Rhoades y Bell, 2018; Martín, 2017; Boron y Boulpaep, 2017).

Por último, también existe una gran cantidad de moléculas con la capacidad de generar vasoconstricción o vasodilatación, conocidas como *moléculas vasoactivas*, en donde se encuentra el óxido nítrico, el factor hiperpolarizador derivado del endotelio (EDHF), la prostaciclina, las endotelinas, el tromboxano A_2 o el factor 1 de constricción derivado del endotelio (EDCF₁), siendo todas denominados *factores endoteliales*, a raíz de que son sintetizados y liberados por las células del endotelio vascular (Martín, 2017; Boron y Boulpaep, 2017).

5.2.1 Regulación del músculo liso vascular

Al tener gran cantidad de mecanismos involucrados en la contracción-relajación, las CMLV están capacitadas para controlar finamente la resistencia de los vasos sanguíneos, contribuyendo enormemente en el control del gasto cardíaco y la presión sanguínea, tanto local como sistémicamente (Rhoades y Bell, 2018; Boron y Boulpaep, 2017). Por ende, es bien sabido que una disfunción y/o deterioro en el ciclo fosforilación-desfosforilación de las MLC, reducciones en la concentración del agonista o activaciones ineficaces de los receptores contribuyen en la aparición y desarrollo de patologías tales como la hipertensión, la aterosclerosis o la angina de pecho (Hu et al., 2019; Renna y Miatello, 2017). Es por ello por lo que el organismo cuenta con distintos sistemas de regulación del tono vascular (Tabla 8), siendo el otorgado por el sistema nervioso simpático (SNS) y el sistema renina-angiotensina (SRA) los principales y los más estudiados, ya que estos son los abordados por la farmacología a la hora de tratar las enfermedades anteriormente mencionadas; aunque también existe regulación por parte de los factores endoteliales, las plaquetas (liberación de tromboxano A_2) y síntesis de NO vía receptores de histamina a nivel endotelial. (Consolini y Ragone, 2017)

- a) En primer lugar, la liberación simpática de noradrenalina ocasiona una vasoconstricción mediada por la activación de receptores α_1 y α_2 ; mientras que la liberación de adrenalina por las glándulas suprarrenales y su posterior unión a receptores β_2 -adrenérgicos relaja aquellos lechos vasculares que expresen dicho receptor.
- b) El SRA actúa sinérgicamente con el SNS, promoviendo una vasoconstricción mayor y la retención de Na^+ y agua a nivel renal. A nivel de músculo liso, la *angiotensina II* constituye uno de los agentes vasoconstrictores más potentes de la fisiología humana.
- c) Adicionalmente, los factores endoteliales participan en la regulación de la permeabilidad y del tono contráctil, aunque también están involucrados en otros fenómenos vasculares que se relacionan con el equilibrio vasoconstricción-vasodilatación, como la angiogénesis o inclusive las respuestas inflamatorias (Klabunde, 2019; Consolini y Ragone, 2017).

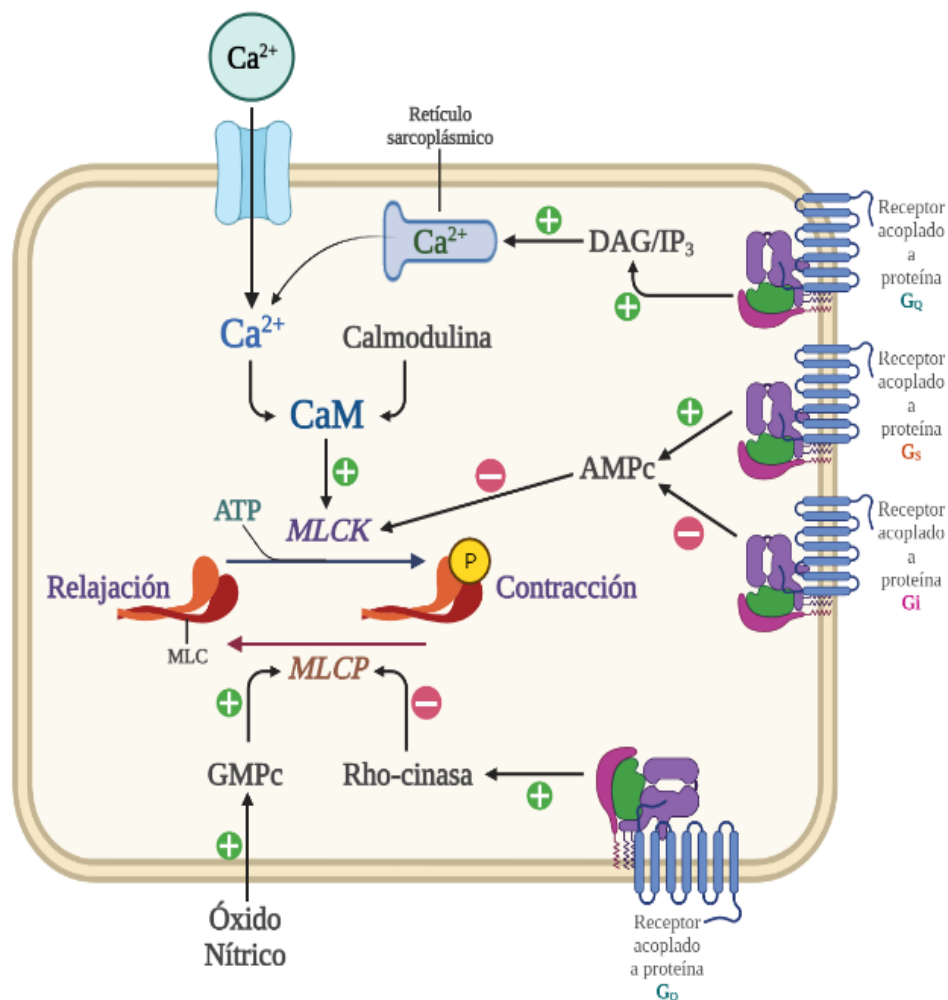


Figura 25. Influencia de los receptores acoplados a proteínas G en el mecanismo contráctil del músculo liso vascular.

Elaboración propia.

Además, la gran mayoría de sustancias vasoactivas modulan la contractilidad muscular actuando sobre receptores específicos acoplados a algún tipo de proteína G (Figura 25). De forma puntual, los vasoconstrictores actúan en base a la proteína G_q que genera constricción a partir de la fosfolipasa C y la síntesis de los segundos mensajeros IP₃ y DAG, haciendo que la PKC fosforile y active a los canales de Ca²⁺ tipo L. Por otro lado, los vasorrelajantes actúan a través de receptores acoplados a proteína G_s, promoviendo el aumento en los niveles de AMPc que deriva en la inactivación de la MLCK gracias a la PKA (Martín, 2017).

Tabla 8. Sustancias endógenas vasoactivas y sus receptores en las CMLV (Consolini y Ragone, 2017).

Efecto	Tipo de receptor	Molécula	Receptor
Vasoconstricción	Acoplado a proteína G _q	Adrenalina/Noradrenalina	α ₁
		Angiotensina II	AT ₁
		Serotonina	5-HT ₂
		Acetilcolina	M ₃
		Endotelina	ET _A y ET _B
		Tromboxano	TP
		Vasopresina	V ₁
	Receptor ionotrópico: canal catiónico no selectivo	ATP	P2X
Activación de canales de Ca ²⁺ tipo L vía ROC	Adrenalina/Noradrenalina	α ₂	
Vasorrelajación	Acoplado a proteína G _s	Adrenalina	β ₂
		Histamina	H ₂
		Prostaciclina	IP
		Adenosina	A ₂

5.3 Efecto de la hipoxia en el músculo liso vascular

Tal como se vio en capítulos anteriores, la hipoxia tisular impulsa la expresión génica adaptativa en una gran variedad de contextos, generalmente mediados por HIF-1 α , cuya finalidad principal es la de apoyar y regular el metabolismo energético (Tao et al., 2018). De hecho, al igual que las demás células del cuerpo, las CMLV deben adaptarse para sobrevivir a la privación de O₂ pasando del metabolismo oxidativo al glucolítico, ya que HIF-1 α favorece la expresión de genes que alejan de las mitocondrias los sustratos de las vías metabólicas aerobias para impulsar específicamente a la glucólisis (Figura 26), siendo ésta una respuesta fundamental contra la hipoxia propia de todos los eucariotas (Semenza, 2012). Sin embargo, las CMLV son altamente sensibles a los entornos hipóxicos intermitentes o prolongados, en donde el cese de su capacidad contráctil por recaídas importantes en las concentraciones de ATP disponible y una proliferación celular anormal son algunas de sus consecuencias más importantes desde el punto de vista médico (Lee y Kang, 2019; Tinker et al., 2014), a raíz de que se han estipulado como mecanismos directos en una gran variedad de patologías que van desde enfermedades vasculares como la hipertensión pulmonar o la aterosclerosis hasta problemas en cicatrizaciones y cáncer en pulmón, páncreas, estómago, recto, vejiga, mama, cuello uterino, ovario y próstata (Semenza, 2012; Tajada et al., 2012)

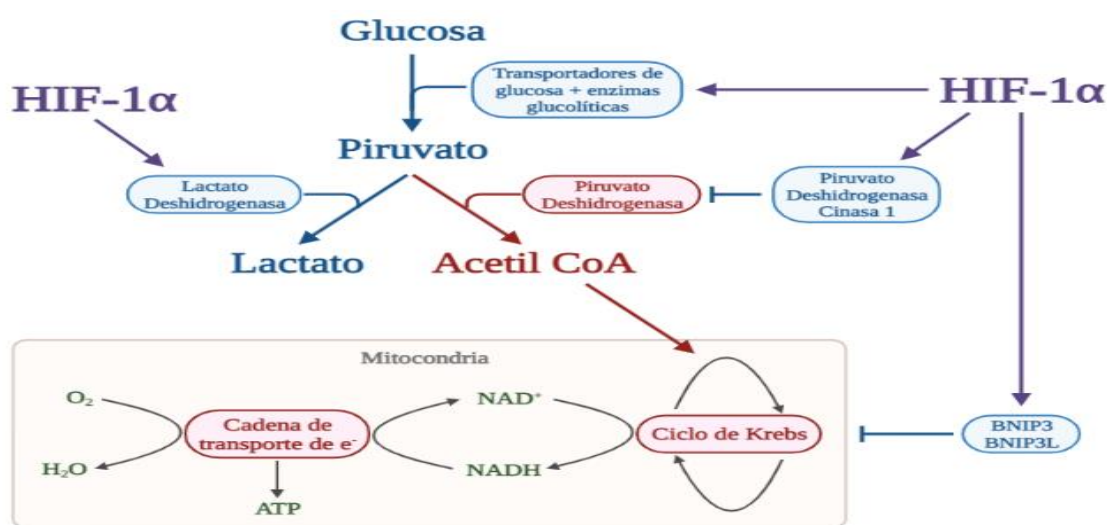


Figura 26. Adaptación celular hacia la hipoxia mediada por HIF-1 α . La acción de HIF-1 α provoca que las células eviten utilizar vías metabólicas mitocondriales oxidativas mientras se impulsa la vía glucolítica. Modificado de “Regulation of Glucose Metabolism” por Semenza, G. L., 2012, *Hypoxia-inducibile factors in physiology and medicine*.

<https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.cell.2012.01.021>

5.3.1 Efectos sobre la contracción muscular

Si bien la disminución en los niveles intracelulares de ATP repercute directamente en la bomba Na^+/K^+ ATPasa y en la actividad de la MLCK en las CMLV, se tiene evidencia de que la activación de canales de K^+ sensibles a ATP (KATP) es la mayor responsable de la vasodilatación que sufre el músculo liso vascular en condiciones hipóxicas, ya que su apertura conduce a una hiperpolarización de membrana y a una disminución en la entrada de Ca^{2+} dependiente de voltaje (Fitridge y Thompson, 2011; Nichols et al, 2013). Lo anterior se debe a que los KATP están ampliamente distribuidos en la vasculatura, abriéndose principalmente cuando los niveles de ATP citosólico caen por debajo de 1 mM y por el aumento de las concentraciones celulares de H^+ , lactato y ADP, siendo condiciones que suceden en la glucólisis impulsada por HIF-1 α ; aunque también pueden ser activados por el óxido nítrico y los eicosanoides (Shi et al., 2012; Gómez. 2018).

Sin embargo, los KATP cumplen un rol fisiológico importante en la regulación metabólica del flujo sanguíneo y en el mantenimiento del tono vascular basal *in vivo* (Foster y Coetzee, 2016), ya que su activación en función de las demandas metabólicas permite que los vasos sanguíneos se dilaten y se incremente la cantidad de oxígeno que llega a las células al aumentar el flujo sanguíneo (Aiello, 2018), a la par de que se protege esencialmente a las CMLV acortando su potencial de acción e inhibiendo la contractilidad, reduciendo el consumo de energía (Nichols et al., 2013). Es por ello que desde su descubrimiento en la década del 2000, la comprensión de las características biofísicas y las funciones fisiológicas de los KATP los ha posicionado como objetivos potencialmente útiles en el tratamiento y prevención de enfermedades cardiovasculares, ya que se ha demostrado que mutaciones en su estructura y/o estrés celular severo secundario a cuadros hipóxicos o isquémicos en las CMLV que los contienen dan lugar a condiciones fisiopatológicas del sistema vascular (Shi et al., 2012; Tester et al., 2011). Las principales formas en que actúan los vasodilatadores y vasoconstrictores, pudiendo ser endógenos o exógenos, sobre los KATP (Figura 27) son:

- a) Los vasoconstrictores, como la vasopresina o los agonistas de los receptores α -adrenérgicos, estimulan a la PKC e inhiben a los KATP.
- b) Los vasodilatadores, como los agonistas de los receptores β -adrenérgicos, aumentan la actividad de los KATP mediante la activación de la vía PKA (Shi et al., 2012).

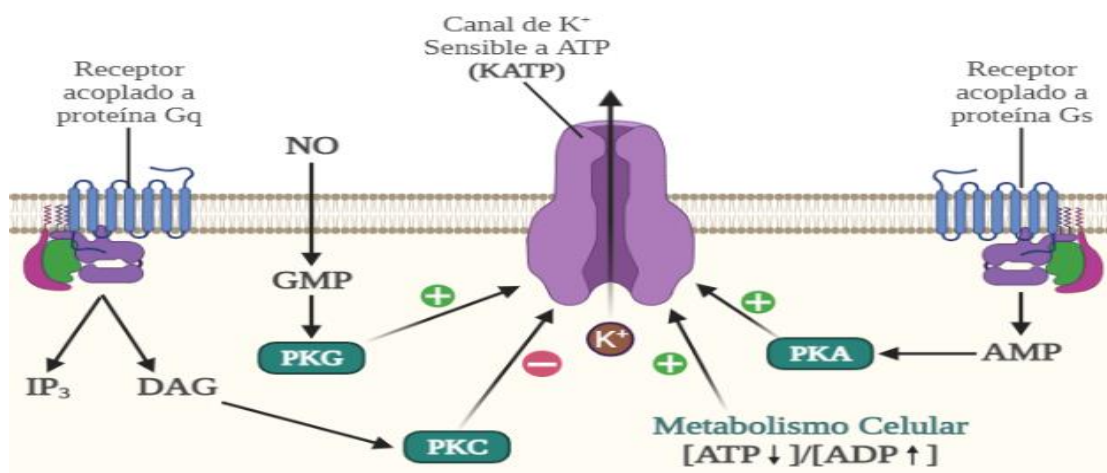


Figura 27. Regulación de los KATP. Nótese que las moléculas que incrementan la actividad de los canales (PKA, PKG) son las mismas que reducen la contracción muscular de las CMLV al influir en las enzimas MLCK y MLCP, mientras que las moléculas que disminuyen la acción de los KATP (PKC) tienen el efecto inverso en la contractilidad de las células musculares. Elaboración propia.

5.3.2 Efectos sobre la proliferación celular

Además de la capacidad de alterar su función contráctil, el entorno hipóxico paradójicamente también puede estimular la proliferación y supervivencia de las CMLV gracias a una regulación génica postranscripcional, la cual es promovida por microambientes bajos en oxígeno y llevada a cabo por los llamados microRNA (miRs) inducibles por hipoxia o *hipoxámiros* (del término inglés *hypoxamiRs*) (Seong y Kang, 2020; Chan et al., 2012). Como antecedente, se debe tener en consideración que los miRs son RNA cortos, monocatenarios y no codificantes que regulan la expresión génica a través de la supresión de mRNA específicos, regulando así prácticamente todos los aspectos de la biología celular, como la proliferación, la migración, la diferenciación y la apoptosis (Bao et al., 2019) En caso de los hipoxámiros, son el miR-210 y el miR-1260b algunos de los más estudiados y con más relevancia, ya que aumentan desordenadamente su expresión y provocan una proliferación celular aberrante de las CMLV en ciertas enfermedades cardiovasculares como la aterosclerosis o la hipertensión (Figura 28), convirtiéndolos en excelentes candidatos para fines de pronóstico e intervención terapéutica, aunque se tiene el gran inconveniente de que no se conoce con exactitud el mecanismo molecular que existe detrás, complicando el desarrollo de tratamientos terapéuticos eficaces (Seong y Kang, 2020; Greco et al., 2014; Chan et al., 2012).

En primera instancia, miR-210 es conocido como el “hipoxámiro maestro” porque se induce en prácticamente todas las enfermedades isquémicas, a manera de regular de forma ascendente los genes que son esenciales para que las células proliferen y contribuyan en la generación de nuevos vasos sanguíneos que ayuden en corregir la hipoxia, a la par de que se evitan rutas apoptóticas (Lee y Kang, 2019; Chan et al., 2012). Si bien hay evidencia de que miR-210 desencadena ciclos de retroalimentación tanto positiva como negativa con HIF-1 α al inhibir a las enzimas GPD1L y SDHD, respectivamente (Kelly et al., 2011; Puisségur et al., 2011), se sabe poco acerca de las razones que ocasionan una desregulación en el ciclo y de los subsecuentes efectos celulares que desembocan en patologías vasculares cuando existen hipoxias prolongadas (Chan et al., 2012). En el caso de miR-1260b, las acciones y condiciones son muy similares al hipoxámiro anterior, con la diferencia de que su efecto pro-proliferativo es mediante la vía GDF11/Smad (Seong y Kang, 2020).

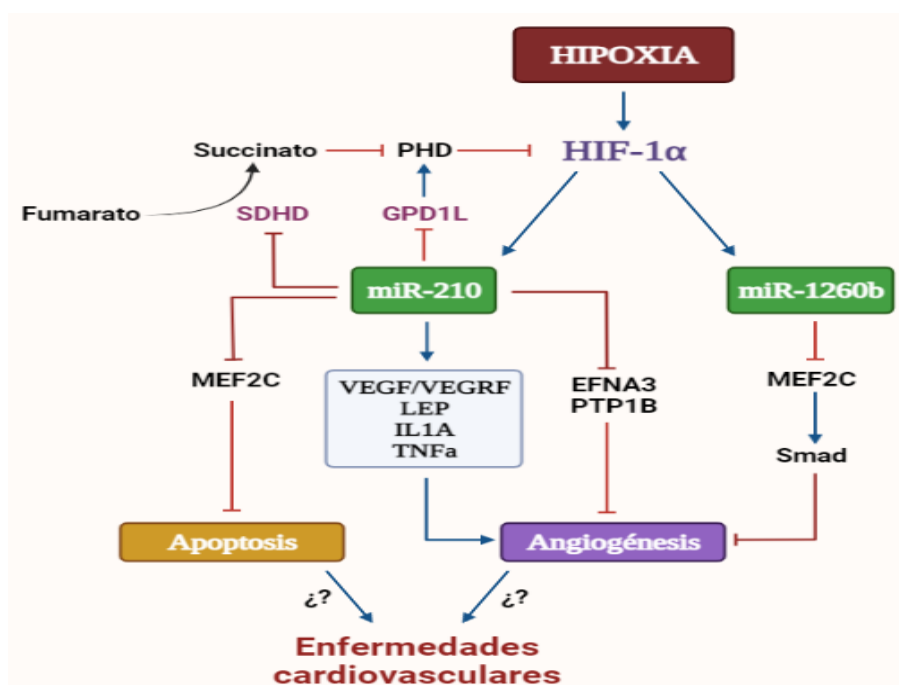


Figura 28. Efectos de miR-210 y miR-1260b. Diversa información experimental ha permitido conocer parte de los mecanismos moleculares acerca de la expresión y efectos celulares de ambos hipoxámiros, aunque se sigue sin comprender las razones por las cuales su regulación se exagera y desencadenan una proliferación aberrante de las CMLV que a la postre desemboca en enfermedades vasculares como la aterosclerosis o la hipertensión. Elaboración propia.

6. Modelos farmacológicos para evaluar la fisiología muscular

La creciente investigación acerca de las enfermedades cardiovasculares ha favorecido simultáneamente el desarrollo de ensayos farmacológicos referentes al estudio del músculo esquelético, cardíaco y liso, siendo uno de los objetivos el comprender los mecanismos de acción, rutas moleculares y las complejas respuestas tisulares que ocasionan los fármacos que se utilizan en el tratamiento tanto de patologías vasculares como miopatías (Aurora Scientific, 2022), donde la mayoría de dichos estudios consisten en la adición de compuestos que activen o inhiban señales específicas similares a las condiciones metabólicas del tejido muscular, pudiéndose medir con precisión aspectos como la fuerza, la longitud muscular, número de contracciones, fatiga, fuerza-frecuencia, fuerza-velocidad o rigidez (Carter y Solomon, 2019; Aurora Scientific, 2022).

Por lo general, los protocolos farmacológicos musculares se basan en metodologías *in vitro* cada vez más sofisticadas, utilizando ingeniería tridimensional o microchips (Wang et al., 2019), ya que muchos modelos *in vivo* fracasan en replicar con precisión las enfermedades humanas, en el perfil de toxicidad o en la predicción de respuestas clínicamente relevantes (Wang et al., 2019; Khodabukus et al., 2018). Sin embargo, se siguen empleando técnicas clásicas sujetas a animales de experimentación cuya relevancia, confiabilidad de resultados y flexibilidad les permiten seguir vigentes en el campo de la fisiología y farmacología, siendo ejemplos claros el modelo *in vitro* de anillo de aorta y el baño de órganos aislados.

6.1 Modelo *in vitro* de anillo de aorta

Originalmente desarrollado en los años 80 como una metodología enfocada en el estudio de la angiogénesis y con la intención de superar las limitaciones y reducir la complejidad de otras técnicas *in vitro* de la época, el modelo de anillo de aorta (o aórtico) hoy en día es uno de los más utilizados para el estudio de distintos mecanismos cardiovasculares, como lo es la contracción del músculo liso, gracias a su capacidad de analizar en tiempo real las interacciones moleculares y celulares que ocurren en tales procesos (Aplin y Nicosia, 2014). Sustancialmente, el modelo consiste en la extirpación de la aorta torácica del animal de experimentación para ser limpiada y cortada perpendicularmente en varias ocasiones, obteniendo pequeños anillos aórticos que se sumergen dentro de una *cámara de órgano aislado* y cuya finalidad es la de medir alguna de sus propiedades fisiológicas que sea dependiente de la concentración existente de agonistas o

antagonistas en el sistema, la cual se puede manipular (Blot et al., 2021; Jespersen et al., 2015). En caso de que se experimente con la actividad contráctil de las células del músculo liso vascular, por ejemplo, el modelo se acopla junto a un transductor de fuerza mecánica que mide el grado de contracción o relajación que el tejido sufra en función a la adición de vasoconstrictores o vasodilatadores, creando así curvas concentración-respuesta tras verter los datos obtenidos en un software especializado y con un tratamiento estadístico subsecuente (Albuquerque et al., 2016). De manera general, el modelo de anillo de aorta (Figura 29) cuenta con los siguientes pasos:

- 1) Sacrificar al animal de estudio, clásicamente una rata, mediante un método de eutanasia que no atente contra la integridad y/o funcionalidad contráctil de la aorta, como lo es la inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico.
- 2) Realizar una incisión en la línea media del tórax y cortar la capa dérmica y muscular hasta llegar a las costillas, cortando el esternón en dos y abriendo hacia afuera ambas partes, obteniendo acceso a los órganos intratorácicos.
- 3) Desplazar sutilmente o diseccionar al corazón y pulmones para localizar a la aorta, apareciendo como un vaso blanquecino situado a lo largo de la columna vertebral y rodeada de tejido fibroadiposo. Hay que tener cuidado de no confundirla con el esófago, siendo éste un conducto que sólo se mantiene gracias al tejido conjuntivo y sin estar unido directamente a la columna.
- 4) Sostener la aorta para separarla de la columna, teniendo cuidado de no aplicar demasiada fuerza que pueda estirla, desgarrarla o dañarla. La aorta de rata adulta mide de 2 a 3 centímetros de longitud.
- 5) Colocar la aorta en una caja Petri moderadamente llena con solución salina fisiológica o con la solución empleada en la cámara de órgano aislado, manteniéndola húmeda y poder efectuar un primer limpiado mecánico que la separe de restos de sangre.
- 6) Pasarla a un microscopio estereoscópico con aumento bajo (2-4x) y retirar el tejido fibroadiposo hemorrágico de sus paredes y cualquier otro coágulo sanguíneo intraluminal.
- 7) Una vez limpia, cortar la aorta en 4-5 anillos de aproximadamente 1 mm de ancho con una cuchilla afilada y aplicando un único movimiento recto.
- 8) Sumergir los anillos aórticos dentro de la cámara de órgano aislado y continuar con la metodología adicional que se esté aplicando en cuestión. Para el estudio de la función contráctil, tal como se mencionó anteriormente, el anillo se conecta a un transductor de

fuerza mecánica que permita medir las respuestas mecánicas que el tejido aórtico sufra tras la adición de sustancias vasoactivas (Iqbal et al., 2017; Jespersen et al., 2015; Blot et al., 2021; Aplin y Nicosia, 2014).

Aunque los experimentos y protocolos que utilizan el modelo de anillo aórtico muchas veces son complejos y muy diferentes entre sí, lo cierto es que dicha técnica cuenta con ventajas resaltables que le han permitido posicionarse en los últimos 20 años en un lugar privilegiado dentro de la investigación farmacológica cardiovascular:

- a) El modelo combina, en primera instancia:
 - 1) Las ventajas de los modelos *in vitro*: comodidad, rapidez en la obtención de resultados, alta reproducibilidad.
 - 2) Las ventajas de los modelos *in vivo*: interacción de multitud de variables que influyen en el organismo, regulaciones estrictas de cumplimiento (Fuentes, Giménez y Prieto, 2018; Dornell, 2021)

De esta forma, gracias a que se trabaja con tejido completamente funcional, se garantizan respuestas bioquímicas, fisiológicas o incluso inmunológicas parecidas a las que ocurren normalmente dentro del organismo. Es por eso que muchos autores se inclinan también a referenciarlo como un modelo *ex vivo*.

- b) Proporciona un tamaño de muestra grande, tanto en el tamaño del anillo de aorta como en la cantidad de estos. Además, muchas veces pueden analizarse de manera simultánea.
- c) Existe buena relación costo-beneficio por obtener resultados reproducibles con gastos económicos relativamente pequeños, sin necesitar gran cantidad de reactivos ni capacitación personal periódica al ser un método rápido y fácil de configurar.
- d) Aunque el protocolo original del año 1982 utilizaba aorta de rata, se ha ido modificando para alojar una gran cantidad de especies donde se incluye al pollo, conejo, vaca, perro e incluso el humano.
- e) Asimismo, las generalidades del método también han permitido explorar e investigar otras regiones del cuerpo altamente vascularizadas como la coroides ocular o el epidídimo (Kapoor et al., 2020; Aplin y Nicosia, 2014).

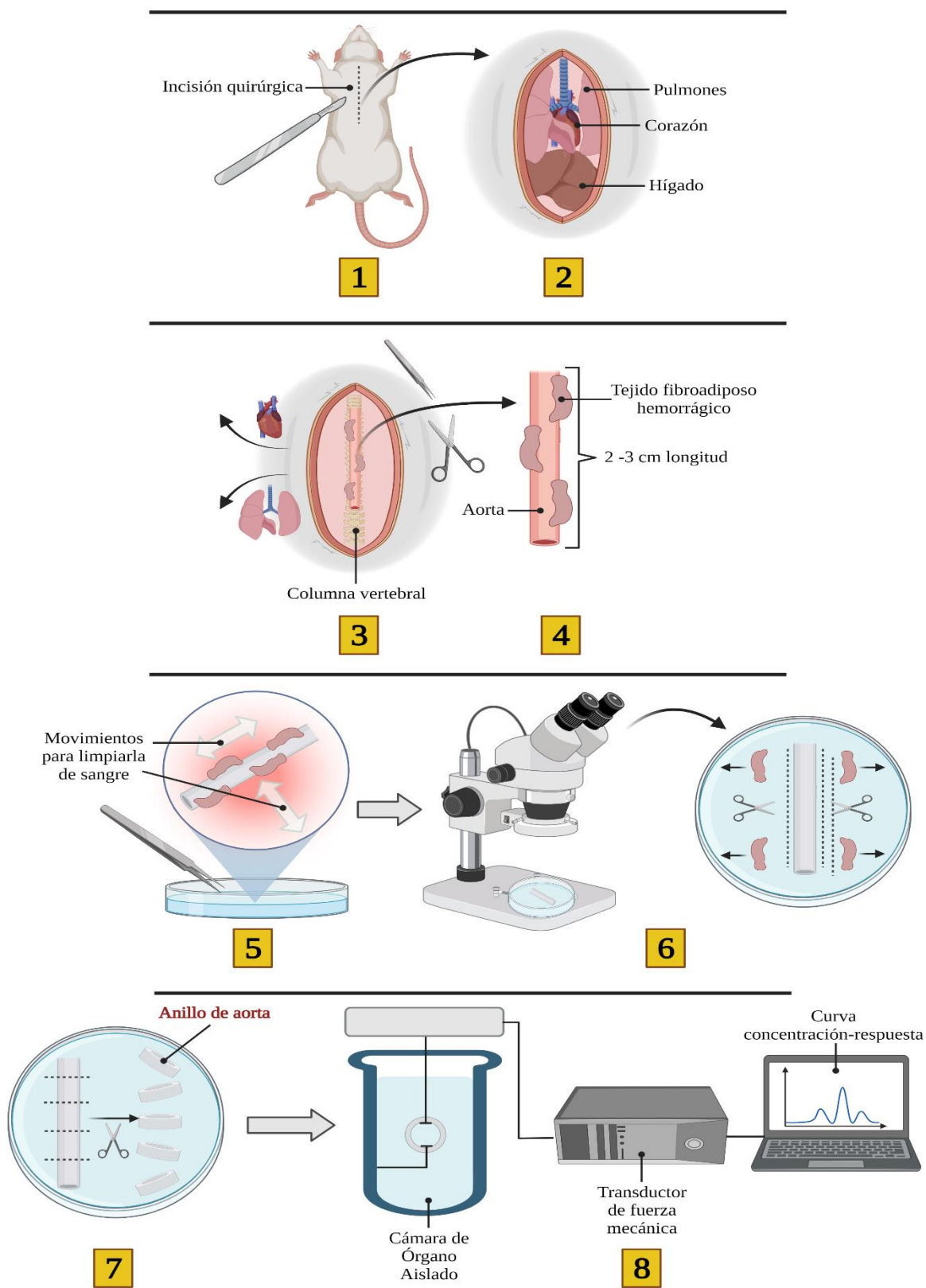


Figura 29. Esquematización de los pasos del modelo *in vitro* de anillo de aorta. Elaboración propia.

6.2 Cámara de órgano aislado

Los baños de tejidos aislados, también llamados cámara de órgano aislado o simplemente baño de órgano, han sido utilizados dentro del campo de la farmacología y la fisiología muscular mucho tiempo antes de que siquiera fuera establecido el modelo de anillo de aorta. De hecho, el baño de órganos fue estipulado por primera vez hace más de 100 años, teniendo su gran reconocimiento científico en el año 1936 cuando fue una herramienta central en el descubrimiento del primer neurotransmisor: la acetilcolina (Upchurch y Iaizzo, 2022). Con el transcurso de las décadas, se han desarrollado nuevas presentaciones del baño de órganos bajo una amplia gama de formas y tamaños, aunque continuando con los principios elementales de la metodología, siendo estos: 1) tener la capacidad de medir los cambios dependientes de la concentración de vasoactivos en la contracción isométrica, definida como el proceso fisiológico donde se genera una tensión muscular pero sin cambio en la longitud de las fibras musculares; y 2) saber cómo la eficacia y la potencia de los agonistas contráctiles pueden manipularse aumentando las concentraciones de antagonistas o inhibidores (Jespersen et al., 2015).

Tanta es su repercusión que aunque actualmente existen novedosas herramientas a nivel genético/molecular, el baño de órganos se considera una herramienta farmacológica clásica en la evaluación de la relación concentración-respuesta en el tejido contráctil de una gran variedad de órganos y sistemas (Tabla 9), ayudando en la elucidación del mecanismo de acción que existe en células o receptores específicos, así como en la obtención e integración de información acerca de respuestas neuronales, estimulación eléctrica, participación de segundos mensajeros o liberación de neurotransmisores, cobrando vital relevancia en ensayos preclínicos de seguridad (DMT, 2020; Panlab, 2019). Esto en parte es debido a ciertas ventajas que el método tiene sobre los ensayos moleculares, como el hecho de que las complejas respuestas de los ensayos con baño de órganos en tejidos vivos pueden ser estudiadas mientras se controlan parámetros físicos como la temperatura o la oxigenación del medio, aparte que es bastante útil cuando se experimenta con tejidos sanos y enfermos procedentes de diversos modelos animales, incluyendo también a los transgénicos o los knockout (Cibertec, 2019; Upchurch y Iaizzo, 2022). Para este punto es factible notar que las bondades del baño de órganos se acoplan extraordinariamente bien con metodologías *ex vivo* como el modelo de anillo de aorta, siendo una combinación sinérgica que muchas veces se referencian en conjunto y sin una distinción clara dentro de la literatura científica.

En cuanto al equipo, el baño de órganos consiste en una cámara de vidrio de doble pared (Figura 30) que contiene dentro un tampón fisiológico cuya composición química es similar a la del plasma del animal donante, con la finalidad de mantener la función y vitalidad tisular al propiciar los sustratos y condiciones idóneas para la formación de ATP, siendo la solución modificada de Krebs-Hanseleit la más utilizada (Radnoti, 2015). Además, existen otros dos parámetros básicos que deben ser controlados durante todo el proceso experimental para el óptimo mantenimiento del tejido: la temperatura y el suministro de oxígeno.

- a) La temperatura generalmente se mantiene a 37°C, aunque esto puede variar según la temperatura corporal del animal del que se derivó el tejido u otras necesidades experimentales. Esto se logra gracias a que existe una camisa de agua que circula libremente entre la doble pared de la cámara, estando conectada directamente a una incubadora de temperatura constante (Albuquerque et al., 2016; Upchurch y Iaizzo, 2022).
- b) El suministro de oxígeno se realiza a través de la aireación directa de una mezcla gaseosa que satura al sistema. Muchas veces se utiliza una mezcla de 95% O₂ - 5% CO₂, la cual a su vez ayuda a que el buffer de bicarbonato, proveniente de la solución Krebs-Hanseleit, establezca el pH, acercándose aún más a las condiciones fisiológicamente normales (Albuquerque et al., 2016).

Sin embargo, hay que saber que para montar correctamente un baño de órganos primero se debe de determinar: 1) las hipótesis básicas y los objetivos específicos del proyecto; 2) las especies y los tipos de tejidos a utilizar como modelos de investigación; 3) los tipos de respuestas experimentales a considerar; y 4) los métodos, instrumentos y estadísticas necesarios para medir y analizar dichas respuestas (Radnoti, 2015). Ahora bien, suponiendo que se va a utilizar el baño de órganos para evaluar la capacidad contráctil del músculo liso vascular en ratas, apoyándose del modelo *in vitro* de anillo de aorta, el procedimiento consta de los siguientes pasos generales, los cuales varían dependiendo levemente de los protocolos validados y/o patentados en cada laboratorio:

a) Acondicionamiento del sistema

- 1) Preparar, en un matraz madre, de 1 a 5 litros de solución Krebs-Hanseleit, en función de las cámaras de órgano aislado disponibles y del número de lavados a realizar. La composición de la solución se enlista en la tabla 10.

- 2) Precalear la incubadora a 37°C y llenar el interior de la doble pared de todas las cámaras, las cuales están conectadas entre sí con el flujo de agua.
- 3) Llenar con la solución Krebs-Hanseleit las cámaras de vidrio precalentadas, a partir de la contenida en el matraz madre.
- 4) Encender el transductor de fuerza mecánica al menos 15 minutos antes de iniciar el experimento para que se equilibre con la temperatura del sistema, ya que muchas veces se fabrican con galgas extensométricas que son sensibles a las variaciones de la temperatura.
- 5) Permitir la entrada constante de la mezcla O₂/CO₂, la cual oxigena al tampón de bicarbonato y proporciona un movimiento browniano que distribuye completamente a los fármacos agonistas que serán introducidos en el baño de órganos durante el experimento.
- 6) Iniciar el software de adquisición de datos, garantizando su conexión al sistema.

b) Preparación del tejido

- 1) Obtener anillos de aorta de rata siguiendo la metodología plasmada en la figura 29.
- 2) Sujetar un anillo a un primer gancho de acero inoxidable, el cual está amarrado a un hilo de seda que a su vez se anuda manualmente al transductor de fuerza. Posteriormente, colocar un segundo gancho en el anillo con orientación hacia abajo.
- 3) Sumergir el anillo dentro de la cámara de vidrio.
- 4) Ensartar el segundo gancho a una pequeña protuberancia alojada en la parte inferior del baño de órganos. De esta manera, el anillo queda fijo al sistema y también unido directamente al transductor. Repetir con todos los anillos a experimentar.

c) Tratamiento experimental para todos los anillos

- 1) Configurar la tensión pasiva, siendo aquella donde las células del músculo liso tienen una longitud en donde responden de manera óptima a los agonistas. Según la fuente consultada, la aorta torácica de rata tiene una tensión pasiva óptima entre 3 o 4 gramos.
- 2) Mantener el tejido dentro del baño de órganos por alrededor de 60 minutos después de aplicar la tensión pasiva. En esta fase, llamada de equilibrio, se realizan lavados cada 15-20 minutos para remover todos los desechos celulares que el tejido excrete al medio. Es en este periodo de tiempo donde el músculo genera ATP, reactiva los transportes activos y restablece su potencial de membrana.
- 3) Después de los lavados, someter al tejido a la acción de agonistas vasoconstrictores, como lo pueden ser la angiotensina II o la fenilefrina. La concentración, número de aplicaciones,

intervalos de tiempo o el uso de algún otro vasoactivo depende meramente de cada protocolo.

- 4) Guardar todos los datos recabados y construir curvas concentración-respuesta tras un análisis estadístico. Como nota adicional, programas diseñados para los farmacólogos como GraphPad Prism son ideales para este tipo de experimentos (Jespersen et al., 2015; Radnoti, 2015; Albuquerque et al., 2016).

Tabla 9. Ejemplos de tejidos en donde se ha utilizado el baño de órganos y su utilidad (Harvard Apparatus, 2022).

Sistema de interés	Tejidos	Usado en el estudio de:
Musculatura vascular	Aorta, arterias y venas	-Espasmos -Espasmolisis -Tono vascular -Edema
Tracto gastrointestinal	Esófago, estómago, intestino, hígado y páncreas	
Tracto respiratorio	Pulmón, tráquea y bronquios	
Tracto urogenital	Riñón, vejiga, uréter, conductos deferentes, útero, pene y placenta	
Cardíaco	Nodo sinusal y auriculoventricular, fibras de Purkinje, atrio, trabécula, músculos papilares y cardíacos	-Inotropismo -Cronotropismo -Dronotropismo -Periodo refractario
Músculo esquelético	Sartorio, gastrocnemio y preparaciones musculoneurales	-Metabolismo -Transmisión neuromuscular
Nervioso	Cerebro, espina dorsal, nervios, ganglios	-Transmisión neuro-neuronal -Transmisión neuromuscular

Tabla 10. Composición de la solución Krebs-Hanseleit modificada (Schurek, 2017).

Componente	Concentración (mmol/L)
NaCl	118
KCl	4.7
CaCl ₂ / Ca ²⁺	2.52
MgSO ₄	1.64
NaHCO ₃	24.88
KH ₂ PO ₄	1.18
Glucosa	5.55

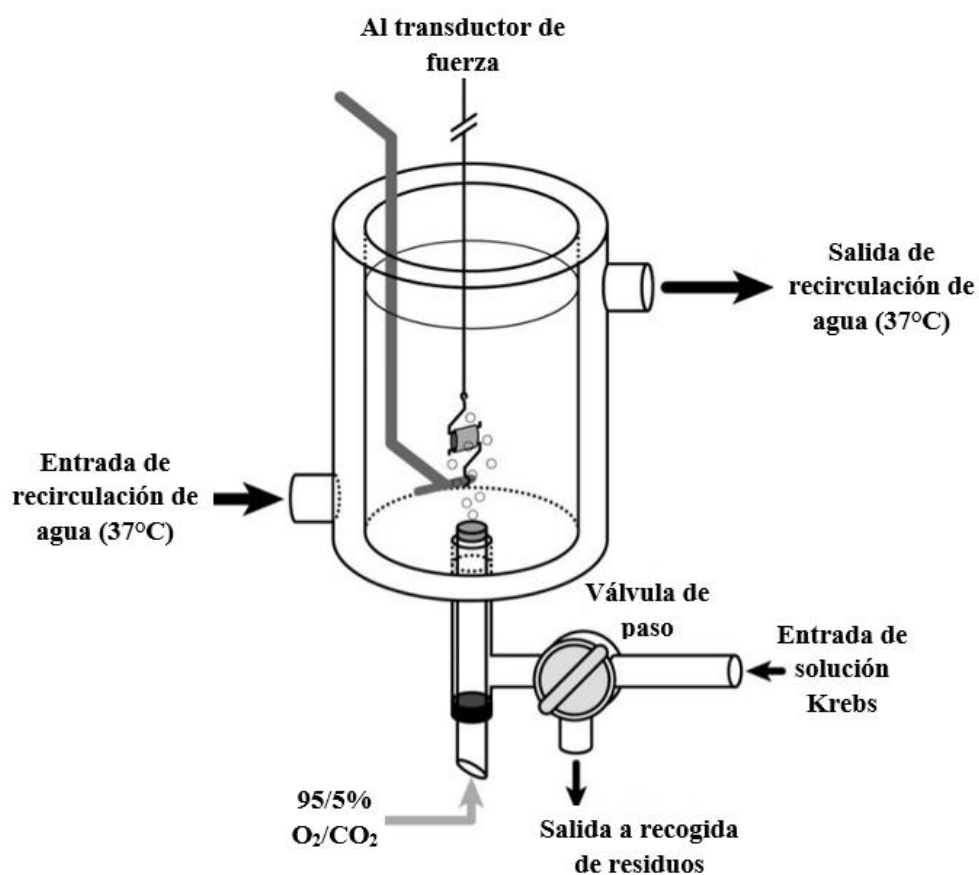


Figura 30. Esquemática de un baño de órganos con un anillo de aorta. Modificado de “Tissue Bath Schematic” por Jespersen, B. et al., 2015, *Measurement of Smooth Muscle Function in the Isolated Tissue Bath-applications to Pharmacology Research*. <https://doi.org/10.3791/52324>

OBJETIVO GENERAL

Obtener curvas concentración-respuesta de aortas de rata Wistar macho y hembra expuestas a angiotensina II y fenilefrina, a través del modelo *in vitro* de anillo de aorta, para determinar si existe diferencia en la reactividad vascular en condiciones hipóxicas entre ambos géneros.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Estandarizar el modelo *in vitro* de anillo de aorta a través de la preparación de solución Krebs y la instrumentación del equipo de órgano aislado para garantizar respuestas musculares provenientes del tejido aórtico.
- Extraer la aorta de ratas Wistar macho y hembra con ayuda de material de disección para su posterior lavado, limpiado y cortado en anillos aórticos.
- Preparar soluciones a concentraciones molares decrecientes de angiotensina II y fenilefrina mediante diluciones 1:9 con solución Krebs para adicionarlas individualmente a cada sistema de baño de órganos.
- Estimar la contracción generada por los agonistas en los anillos de aorta, en gramos-fuerza y utilizando un transductor de fuerza mecánica para la construcción de curvas dosis-respuesta.

HIPÓTESIS

La reactividad vascular en los machos, tanto la ocasionada por la administración de angiotensina II como de fenilefrina, es mayor que la generada en las hembras, ya sea en condiciones normóxicas o cuando existe un déficit en las concentraciones de oxígeno en el entorno intracelular.

METODOLOGÍA

Lotes de animales de experimentación. Se utilizaron 14 ratas Wistar (7 machos y 7 hembras) de 18 semanas de edad, siendo divididas en 4 lotes:

- a) Lote #1: machos con oxígeno (O_2)
- b) Lote #2: hembras con oxígeno (O_2)
- c) Lote #3: machos con hipoxia (s/O_2)
- d) Lote #4: hembras con hipoxia (s/O_2)

Preparación de solución Krebs y llenado de cámara de órgano aislado. En matraz volumétrico de 2 litros, se disolvieron los reactivos NaCl (13.8 g), dextrosa (4.2 g), $NaHCO_3$ (4.2 g), KCl (0.7 g), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0.58 g), KH_2PO_4 (0.32 g), $CaCl_2 \cdot H_2O$ (0.74 g) y Ca-Na-EDTA (0.02 g), con agitación constante y verificando que no existieran precipitaciones o turbidez. La solución Krebs resultante se depositó en un matraz de bola que conecta, mediante válvulas, a varias cámaras de órgano aislado de forma independiente entre sí (Figura 31), las cuales se oxigenaron (38 psi de presión) y entibieron a $37^\circ C$ con un termo-circulador LabTech (Figura 32). La preparación de la solución Krebs se repitió las veces necesarias para completar toda la metodología en las 14 ratas Wistar iniciales.

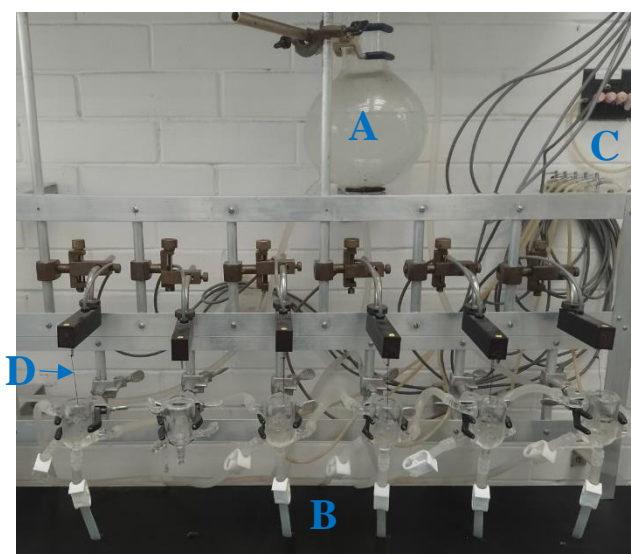


Figura 31. Equipo de baño de órganos del Laboratorio de Farmacología del Miocardio, FESC. Se aprecia el matraz madre (A), las 6 cámaras de órgano aislado individuales (B), la conexión proveniente del tanque de oxígeno (C) e inclusive el hilo que vincula a los anillos aórticos con el transductor de fuerza mecánica (D). Fotografía propia.



Figura 32. Thermo-circulador LabTech del Laboratorio de Farmacología del Miocardio, FESC. Una vez seleccionada la temperatura deseada del agua circulante, ésta se mantiene constante durante todo el protocolo experimental. Fotografía propia.

Colgado de anillos de aorta en cámara de órgano aislado. A los animales de laboratorio se les administró 3-4 mL de pentobarbital sódico por vía intraperitoneal. Una vez insensibilizados, se les abrió la caja torácica usando material de disección para localizar y extraer la aorta rápidamente (procurando no dañar o estirar dicho tejido) para posteriormente lavarla con solución Krebs, retirar el tejido conjuntivo que tuviera pegado a sus paredes y cortarla perpendicularmente en alrededor de 4-5 anillos. De forma individual, estos anillos se colgaron y estiraron a 3 gramos-fuerza dentro de la cámara de órgano aislado llena de solución Krebs, gracias al uso de anillos de acero e hilo que fue adaptado a un transductor de fuerza mecánica, siendo éste el MP100A-CE de BIOPAC Systems (Figura 33). Los 4 lotes se trabajaron a las mismas especificaciones y con lavados cada 15 minutos durante 45 minutos, con la diferencia de que aquellos lotes con oxígeno eran abastecidos plenamente con dicho gas, mientras que los lotes hipóxicos fueron oxigenados pobremente.

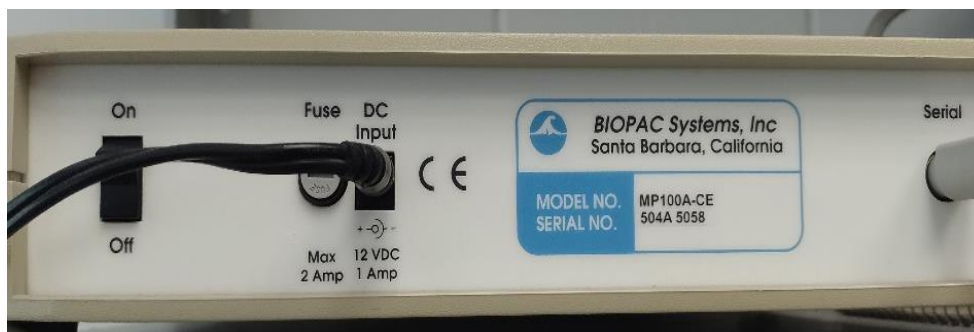


Figura 33. Transductor MP100A-CE de la marca BIOPAC Systems del Laboratorio de Farmacología del Miocardio, FESC. Gracias a él y al software *AcqKnowledge* es posible la construcción de curvas-dosis respuesta.



Figura 34. Cámara de órgano aislado con anillo aórtico. El tejido blanquecino (centro) está sujeto verticalmente a dos ganchos de acero, fijándolo a la cámara de órgano (gancho inferior) y al transductor de fuerza mecánica (gancho superior), a la par de que sirven para que el burbujeo de oxígeno no mueva al anillo de aorta. Fotografía propia.

Preparación de soluciones de angiotensina II y fenilefrina. Se pesaron, por separado, 1 mg de angiotensina II y 0.1 mg de fenilefrina, los cuales fueron aforados a 1 mL para obtener soluciones madre de ambos agonistas a una concentración de 10^{-3} M. De sus respectivas soluciones madre, se tomaron 0.1 mL y se depositaron en viales que contenían adicionalmente 0.9 mL de solución Krebs (proporción 1:9), obteniendo así soluciones a concentración 10^{-4} M. De esta nueva solución, se repitió el paso anterior para preparar las demás soluciones cuya concentración fue disminuyendo exponencialmente hasta llegar a concentraciones de 10^{-10} M. El procedimiento para angiotensina II difirió en el hecho de que todos los pasos debieron ser realizados dentro de una cama de hielo.

Obtención de curvas concentración-respuesta. Después de los lavados de cámara de órgano aislado, se agregaron 0.1 mL de la solución fría 10^{-10} M de angiotensina II a cada uno de los contenedores que albergaban un anillo de aorta. Pasados 3 minutos, se agregó la solución fría de concentración 10^{-9} M y se volvieron a esperar 3 minutos, continuando sucesivamente hasta llegar a la solución de 10^{-4} M, registrando digitalmente la administración de cada solución dentro del software especial del transductor de fuerza mecánica, siendo dicho software el *AcqKnowledge* de la marca BIOPAC. Posteriormente, se bajó la tensión de los anillos de aorta (0 gramos-fuerza) y se dejaron reposar por 30 minutos, para después continuar con 3 lavados cada 15 minutos durante 45 minutos. Por último, se repitió el procedimiento anterior pero ahora partiendo con la solución 10^{-10} M de fenilefrina.

Tratamiento estadístico. Los resultados obtenidos por *AcqKnowledge* se analizaron en busca de diferencias significativas con el programa GraphPad Prism 8, aplicando t de Student y ANOVA de 1 y 2 vías con una $p < 0.05$.

RESULTADOS

En este protocolo, en donde se utilizaron anillos aórticos de ratas Wistar hembras y machos de 18 semanas de edad bajo condiciones tanto normóxicas como hipóxicas, se determinó la reactividad vascular de angiotensina II y fenilefrina, obteniéndose distintos resultados en función del género del animal de experimentación y del agonista suministrado en cuestión.

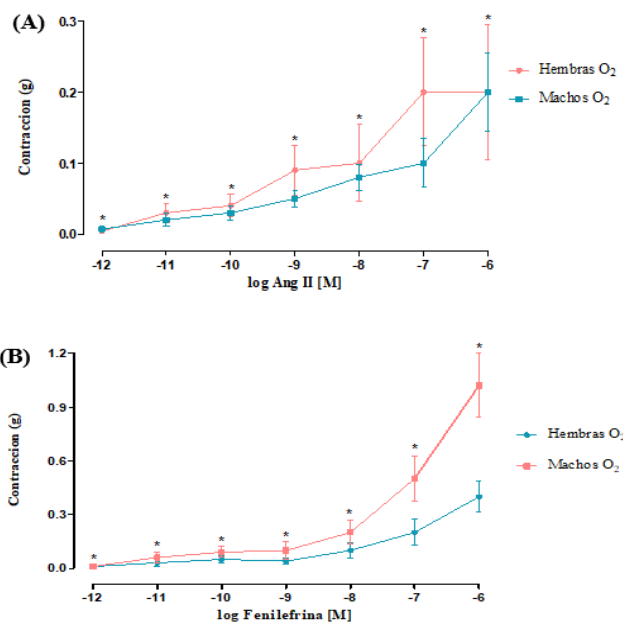
Bajo normoxia, se comprobó que la reactividad vascular originada por la adición de angiotensina II y propiciada por el sistema renina-angiotensina es significativamente mayor (*, $p < 0.05$) en hembras que en machos (Gráfica 1-A); aunque el patrón se invierte tras la adición de fenilefrina, siendo los machos los que presentaron una mayor reactividad vascular mediada ahora por el sistema nervioso simpático en comparación con las hembras (Gráfica 1-B). Sin embargo, en condiciones hipóxicas no se encontraron diferencias significativas al momento de comparar entre ambos géneros los efectos generados por angiotensina II y fenilefrina, por lo que la eficacia del sistema renina-angiotensina y del sistema nervioso simpático para aumentar la reactividad vascular es similar tanto en machos como en hembras a bajos niveles de oxigenación (Gráfica 2).

Ahora bien, al comparar el efecto de angiotensina II entre los machos normóxicos e hipóxicos, se observa que la reactividad vascular del lote hipóxico pareciera aumentar respecto a su lote control, aunque al no encontrarse diferencias significativas entre ambos, se entiende que el aumento de la reactividad vascular en los machos no difiere ante la presencia o ausencia de oxígeno (Gráfica 3-A). Por otro lado, cuando se compara a las hembras normóxicas contra las hipóxicas, los resultados denotan que la reactividad vascular de las segundas disminuye significativamente (*, $p < 0.05$) en comparación con las primeras, por lo que la eficacia del sistema renina-angiotensina para aumentar la reactividad vascular sí disminuye ante entornos hipóxicos, lo cual termina repercutiendo en la contractilidad del músculo liso (Gráfica 3-B).

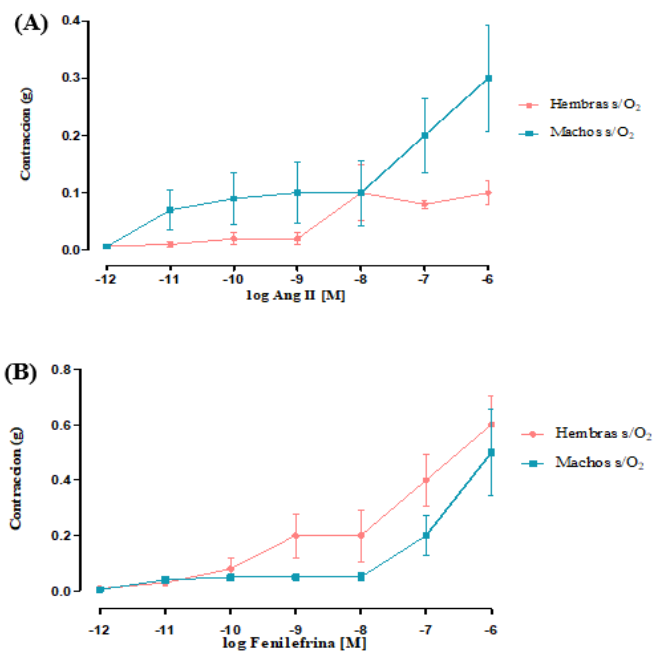
Por último, tras la adición de fenilefrina, se observa que la reactividad vascular en los machos hipóxicos pareciera disminuir respecto al lote control, aunque al no existir ninguna diferencia significativa entre ambos, se resalta que la eficacia del sistema nervioso simpático para aumentar la reactividad vascular es independiente de los niveles de oxígeno existentes (Gráfica 4-1). No obstante, la reactividad vascular de las hembras hipóxicas mediada por dicho agonista es significativamente mayor (*, $p < 0.05$) en comparación con el lote control, por lo que la falta de

oxígeno incrementa la eficacia del sistema nervioso simpático para aumentar la reactividad vascular, conduciendo a un incremento de la actividad contráctil de la musculatura lisa vascular como respuestas hacia la hipoxia.

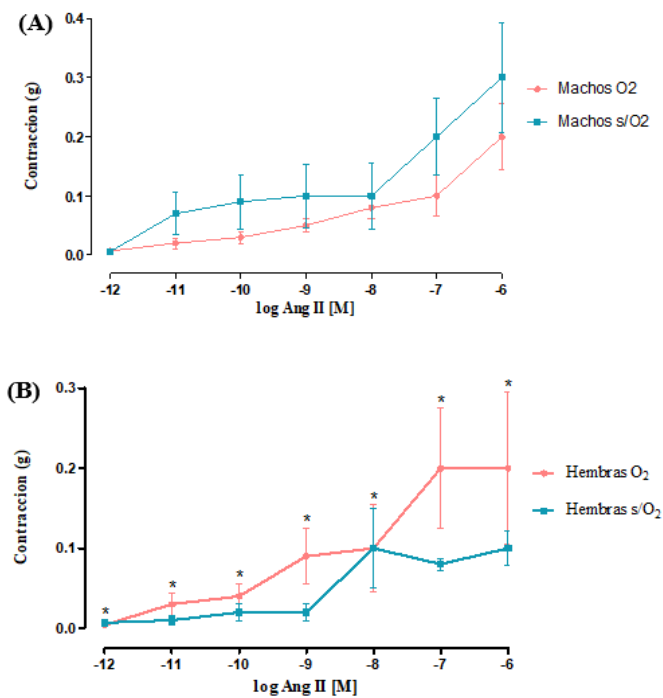
Gráfica 1. Curvas concentración-respuesta a concentraciones crecientes de angiotensina II (A) y fenilefrina (B) sobre preparados normóxicos de anillos aórticos de ratas Wistar macho y hembra.



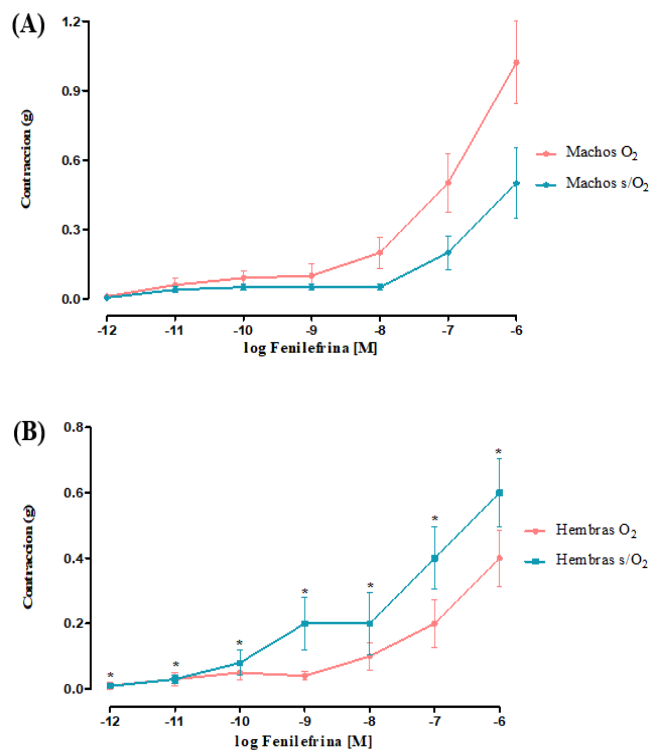
Gráfica 2. Curvas concentración-respuesta a concentraciones crecientes de angiotensina II (A) y fenilefrina (B) sobre preparados hipóxicos de anillos aórticos de ratas Wistar macho y hembra.



Gráfica 3. Curvas concentración-respuesta a concentraciones crecientes de angiotensina II sobre preparados normóxicos e hipóxicos de anillos de aorta de ratas Wistar macho (A) y hembra (B).



Gráfica 4. Curvas concentración-respuesta a concentraciones crecientes de fenilefrina sobre preparados normóxicos e hipóxicos de anillos de aorta de ratas Wistar macho (A) y hembra (B).



ANÁLISIS DE RESULTADOS

El estudio de la musculatura lisa del tejido aórtico es perfecto para representar el comportamiento de la reactividad vascular en un organismo completo al estar directa y ampliamente innervada por dos mecanismos homeostáticos diferentes: el SRA a través de la expresión de receptores tipo 1 de angiotensina II (AT₁) y el SNS mediante receptores α_1 -adrenérgicos. Y aunque los estudios relacionados con la reactividad vascular crecen día a día como una manera de entender y prever la ocurrencia de enfermedades cardiovasculares en la población mundial, las diferencias en cuanto a la reactividad vascular entre ambos géneros desafortunadamente han sido descritas de forma escasa, a la par de que los mecanismos que subyacen a dicho dimorfismo sexual siguen sin comprenderse bien y que la investigación preclínica y clínica sobre el género femenino continúa estando subrepresentada, lo cual aumenta cuando se agregan factores que son ajenos a la fisiología normal, como es el caso de los cuadros hipóxicos (Medina et al., 2020).

Tabla 11. Concentración efectiva 50 (CE₅₀) de los agonistas angiotensina II y fenilefrina en función de los cuatro lotes de experimentación.

Lote	Nombre	CE ₅₀ Angiotensina II (M)	CE ₅₀ Fenilefrina (M)
1	Machos con oxígeno (O ₂)	1.22 x 10 ⁻⁸	3.83 x 10 ⁻⁸
2	Hembras con oxígeno (O ₂)	1.41 x 10 ⁻⁹	2.86 x 10 ⁻⁸
3	Machos hipóxicos (s/O ₂)	4.27 x 10 ⁻⁹	7.93 x 10 ⁻⁸
4	Hembras hipóxicas (s/O ₂)	1.25 x 10 ⁻⁹	7.58 x 10 ⁻⁹

En el presente estudio, en primera instancia se analizaron los resultados de la afinidad de la angiotensina II hacia los receptores AT₁, donde se encontró un aumento en los dos lotes hipóxicos en comparación con sus respectivos controles, debido a que se requiere menor concentración del agonista para alcanzar la CE₅₀ cuando existe un déficit en los niveles de oxígeno, ocasionando así que la potencia del fármaco sea mayor que en condiciones normóxicas. En cuanto a la fenilefrina, la potencia disminuye en los machos hipóxicos respecto a su lote control, aunque el patrón se invierte en el género opuesto (Tabla 11), siendo las hembras hipóxicas las que presentan una mayor potencia que su contraparte normóxico, lo cual significa que la afinidad de

la fenilefrina hacia receptores α_1 -adrenérgicos del sistema nervioso simpático difiere en función del género, aspecto que no ocurre con el sistema renina-angiotensina. Adicionalmente y a diferencia de la CE_{50} de fenilefrina, donde se observan datos mucho menos distanciados entre sí, la CE_{50} de angiotensina II muestra diferencias de hasta un orden logarítmico entre los cuatro lotes, pudiendo significar que el mecanismo de regulación de la reactividad vascular ejercido por el sistema nervioso simpático es uno más conservado y con una jerarquía fisiológica mayor que el dado por el sistema renina-angiotensina.

Por otro lado y analizando individualmente el efecto causado por la angiotensina II, se encontró que el número de receptores AT_1 que son ocupados por el agonista es mayor en las hembras normóxicas en comparación con los machos, lo que significa que el aumento de la reactividad vascular por los estímulos del SRA es más eficaz en ellas (Gráfica 1-A), lo cual puede explicarse como una respuesta adaptativa desarrollada por las hembras, ya que las hormonas sexuales femeninas, especialmente los estrógenos, ocasionan un bloqueo ribosómico y una interferencia directa con la transcripción de los genes $AGTR1$ y ECA que reducen respectivamente la expresión de receptores AT_1 en la musculatura lisa vascular y de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) en suero y tejidos (Venegas-Pont et al., 2010; Medina et al., 2020), por lo que a diferencia de los machos, sus receptores parecieran estar fenotípicamente predispuestos a ser activados en mayor número y a menores concentraciones de angiotensina II, aspecto que también explicaría el por qué fue en las hembras normóxicas donde el agonista fue más potente y no en sus contrapartes masculinas (Tabla 11). De hecho, pese a que los machos expresan mayores niveles de receptores AT_1 en la vasculatura (Medina et al., 2020), lo cierto es que sus CMLV son más susceptibles que las de las hembras a sufrir eventos apoptóticos y/o hipertróficos ocasionados por estrés oxidativo secundario a la presencia de ERO (Pedrosa y Webb, 2021; Malorni et al., 2008), siendo éstas generadas por acción de la misma angiotensina II al momento de acoplarse a receptores AT_1 y activar subsecuentemente a NADPH oxidasas de membrana, las cuales son necesarias para la transducción de señales (St. Paul et al., 2020; Drummond et al., 2011). De esta forma, se podría suponer que las ERO ocasionan que las CMLV restantes en el tejido masculino deban aumentar su actividad para compensar la muerte apoptótica del tejido, necesitando así mayores concentraciones de angiotensina II para efectuar una respuesta contráctil normal mediante la liberación de calcio intracitoplasmático, aunque eso reinicie de nueva cuenta el ciclo oxidativo y a la postre desemboque en patologías cardiovasculares, algo ampliamente reportado en la

literatura (White et al., 2019). Esta sería otra justificación de las diferencias encontradas entre ambos géneros respecto a la potencia de la angiotensina II, la cual se fortalece por el hecho de que las hembras poseen una fuerte expresión de mecanismos antioxidantes tisulares gracias a su fenotipo y al efecto de hormonas sexuales (White et al., 2019; Xue et al., 2009) que evitarían la disminución de la reactividad vascular mediada por el SRA.

Por otro lado y de forma contraria con el SRA, se encontró que la cantidad de receptores α_1 -adrenérgicos activados por la fenilefrina fue mayor en los machos normóxicos que en las hembras, lo que sugiere que el aumento de la reactividad vascular mediada por la inervación del SNS es más eficaz en los primeros, lo cual se fundamenta a través de efectos fisiológicos relacionados con la hormona sexual testosterona, debido a que dicha hormona favorece la expresión de receptores α_1 -adrenérgicos tanto a nivel de mRNA como de proteína en la musculatura lisa vascular en los machos (Carbajal-García et al., 2020), puesto que evolutivamente necesitan de una mayor reactividad vascular para funciones tan importantes como lo es, por ejemplo, la reproducción, al depender de los receptores α_1 -adrenérgicos para la correcta expulsión de semen tras la tensión contráctil de los conductos deferentes, reforzando así la idea de que la testosterona es la hormona que desde el punto de vista masculino, permite la fecundación (Sanbe et al., 2009; Akinaga et al., 2019), aspecto que por su puesto no ocurre en las hembras, ya que aunque también poseen testosterona circulante en la sangre proveniente de los ovarios o la zona suprarrenal, su cantidad es mínima y fácilmente opacada por los estrógenos, cuya acción a nivel de SNS es favorecer la expresión y actividad de receptores vasodilatadores del tipo β_2 (Hart et al., 2011), por lo que el número de receptores α_1 -adrenérgicos disponibles para ser activados por la fenilefrina que conlleven a iniciar vías de señalización intracelularmente corriente abajo, aumentando así la reactividad vascular, es intrínsecamente superior en los machos (Gráfica 1-B), suponiendo además que el género femenino cuenta con una adaptación compensatoria al necesitar menores concentraciones de agonistas α_1 -adrenérgicos que aumenten su reactividad vascular por tener menor cantidad de receptores disponibles, explicando así el por qué fue en las hembras normóxicas donde la fenilefrina resultó ser más potente y no en los machos (Tabla 11). De hecho, existe evidencia de que las hembras tienen una estimulación simpática atenuada en comparación con los machos, aunque los estrógenos también reducen la densidad de receptores α_1 -adrenérgicos en la musculatura lisa vascular, estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado que el género femenino posee receptores más afines y/o sensibles a los agonistas adrenérgicos que sus similares masculinos

(Akinaga et al., 2019; Banie et al., 2009). Desafortunadamente, no se sabe el mecanismo exacto sobre cómo las hormonas sexuales modulan a los receptores adrenérgicos ni mucho menos cual sea la razón fisiológica de éste “antagonismo funcional”, aunque podría ser que a diferencia de los machos, las hembras cuentan con mecanismos que favorecen el aumento simpático de la reactividad vascular con tal de oponerse equilibradamente a los muchos efectos vasodilatadores adjudicados a los estrógenos, siendo uno de ellos el contar con receptores predispuestos a ser ocupados por su respectivo ligando de manera más sencilla y a menores concentraciones, aunque esto necesita de investigaciones adicionales que aborden el tema más a profundidad (Marañón y Reckelhoff, 2013; Hart et al., 2011).

Además, el presente estudio mostró que el aumento de la reactividad vascular, ya sea a través del SRA o por inervación del SNS, resulta ser independiente del género cuando los niveles de oxígeno disminuyen, dando a entrever que la eficacia de los receptores AT_1 y α_1 -adrenérgicos para activar vías de señalización subsecuentes que culminen en la contracción del músculo liso vascular es similar en machos y hembras en condiciones hipóxicas, aspecto que difiere totalmente de lo ocurrido con los entornos normóxicos (Gráfica 2). En esta ocasión, la explicación pudiera no estar fundamentada por hormonas sexuales sino más bien a HIF-1 α , debido a que éste censa los bajos niveles intracelulares de oxígeno y promueve, al menos en parte, la expresión y actividad de receptores AT_1 y α_1 -adrenérgicos en la musculatura lisa, intentando favorecer la reactividad vascular de las CMLV que se encuentra mermada por la hipoxia, la caída de las concentraciones de ATP y por la activación de KATP (Gasukova et al., 2016; Foster y Coetzee, 2016; Sodhi et al., 2018), por lo que pareciera que los mecanismos homeostáticos vasculares aumentan las vías de señalización calcio-dependientes activas para compensar la disminución contráctil que es secundaria a la hipoxia en lugar de conservar los efectos fisiológicos que tienen las hormonas sexuales sobre los receptores del SRA y SNS, premisa que se apoya en que al menos a la fecha, experimentalmente no se han encontrado dimorfismos sexuales en la actividad de HIF-1 α a nivel de receptores vasculares ni en la actividad y densidad de los KATP, provocando que el aumento de la reactividad vascular en condiciones hipóxicas sea indistinto entre machos y hembras (Vargas et al., 2014).

Respecto a las diferencias del aumento de la reactividad vascular dadas por la hipoxia, ahora en función de un mismo género y hablando en primera instancia del SRA, se observa que la

cantidad de receptores AT1 disponibles para ser activados por angiotensina II es similar tanto en machos normóxicos como hipóxicos, lo anterior nos hace sugerir que la contracción del músculo liso vascular no es dependiente de la cantidad de oxígeno intracelular en los machos. Tal suposición puede deberse a que los entornos hipóxicos elevan la concentración de ERO provenientes del complejo III de la cadena de transporte de electrones mitocondrial, los cuales a su vez causarían la apoptosis de las CMLV debido a que la angiotensina II genera ERO mediante la activación subsecuente de NADPH oxidasas cuando se une a los receptores AT1, lo cual genera estrés oxidativo celular (Hernansanz-Agustín y Enríquez, 2021; Pedrosa y Webb, 2021; Malorni et al., 2008; St. Paul et al., 2020). No obstante, son las mismas ERO las que permiten que HIF-1 α se estabilice, acumule y ejerza sus acciones transcripcionales al inhibir la actividad de las PHD que lo marcan para su ubiquitinación, por lo que es capaz de aumentar la expresión de receptores AT1 en la musculatura lisa vascular (Gasukova et al., 2016; Hamanaka y Chandel, 2009). A pesar de la hipoxia y que la población de CMLV disminuye, las células sobrevivientes cuentan con un incremento en el número de sus receptores, de tal forma que la densidad final de los mismos es semejante al expresado fisiológicamente en entornos normóxicos, por lo que el número de vías de señalización que son activadas por la angiotensina II llegaría a ser similar en ambas situaciones, explicando así el por qué no se encontraron diferencias significativas en el aumento de la reactividad vascular (Gráfica 3-A). Sin embargo, se debe resaltar que fue en los machos hipóxicos donde la angiotensina II resultó ser más potente que en aquellos normóxicos (Tabla 11), siendo probable que el acoplamiento y vías de señalización de angiotensina II sea más eficaz en las células vivas remanentes, generando el aumento de la reactividad vascular. De hecho, pese a que no se conoce el mecanismo molecular detrás, diversos experimentos con animales o pacientes con algún grado de hipoxia demuestran un aumento en la actividad del SRA, incluyendo la unión de angiotensina II con su receptor (Bosc et al., 2010), aunque la falta de información teórica ha provocado que tales hallazgos sigan catalogándose como controvertidos.

En cuanto al género femenino, los resultados señalan que las hembras normóxicas poseen mayor cantidad de receptores AT1 disponibles para ser acoplados por angiotensina II en comparación con las hembras hipóxicas. El aumento de la reactividad vascular mediada por la acción del SRA es más eficaz en aquellas plenamente oxigenadas, ya que en la hipoxia las CMLV femeninas también experimentan aumentos exacerbados de ERO mitocondriales que permiten la estabilización de HIF-1 α con posterior expresión de un mayor número de receptores AT1 en el

músculo liso vascular. Además, el entorno intracelular con propiedades antioxidantes, intrínseco de las hembras y producto de los estrógenos, atenúa las concentraciones de ERO y con ello la densidad de receptores AT1, haciendo que la cantidad de vías de señalización disponibles que propicien la contractilidad del músculo liso y aumenten la reactividad vascular sea menor que en condiciones normóxicas (Gráfica 3-B). Lo anterior puede deberse a que las células vasculares femeninas poseen menor densidad de receptores AT1 que evita condiciones fisiopatológicas tales como la hipertrofia, hipercontractilidad o inflamación, ya que se sabe que la activación de dichos receptores estimula la vía de NF- κ B, promoviendo la presencia de citocinas proinflamatorias y aumento de estrés oxidativo incrementando el cuadro hipóxico, afectando directamente la regulación e integridad del tono vascular (El-Arif et al., 2022).

Respecto a las diferencias de la reactividad vascular mediada por el SNS, los resultados suponen que la cantidad de receptores α_1 -adrenérgicos disponibles para acoplarse con fenilefrina es semejante en machos normóxicos e hipóxicos, sugiriendo que en el género masculino, la eficacia para activar vías de señalización que propicien la contracción del músculo liso vascular es independiente a las concentraciones de oxígeno. De hecho, parecido a lo ocurrido en el SRA, el cuadro hipóxico genera ERO mitocondriales que favorecen la activación de HIF-1 α , ocasionando un aumento en la expresión de receptores α_1 -adrenérgicos en la superficie de la musculatura lisa, a la par que el estrés oxidativo celular disminuye la población de CMLV viables (Gasukova et al., 2016; Hamanaka y Chandel, 2009; Malorni et al., 2008). De esta manera, las células sobrevivientes a la hipoxia poseen una mayor cantidad de dichos receptores, causando que la densidad de éstos sea parecida a la que se expresa de forma normal en entornos celulares bien oxigenados, por lo que el número de vías de señalización calcio-dependientes activadas por la fenilefrina sería similar en ambas condiciones, explicando así por qué no hubo ninguna diferencia significativa en el aumento de la reactividad vascular (Gráfica 4-A), suponiendo además que durante una falta de oxigenación, no hay algún mecanismo compensatorio que disminuya la concentración de fenilefrina que se requiere para activar los receptores α_1 -adrenérgicos, ya que la potencia del agonista no cambia entre los machos del lote control respecto al hipóxico (Tabla 11).

Tabla 12. Diferencias encontradas en la reactividad vascular mediada por Angiotensina II y Fenilefrina al compararse los cuatro lotes de experimentación.

vs	Machos con Oxígeno (Lote #1)	Hembras con Oxígeno (Lote #2)	Machos con Hipoxia (Lote #3)	Hembras con Hipoxia (Lote #4)
Machos con Oxígeno (Lote #1)	N/A	Mayor por Angiotensina II en Lote #2 Mayor por Fenilefrina en Lote #1	Sin diferencias significativas con ningún agonista	N/A
Hembras con Oxígeno (Lote #2)	Mayor por Angiotensina II en Lote #2 Mayor por Fenilefrina en Lote #1	N/A	N/A	Mayor por Angiotensina II en Lote #2 Mayor por Fenilefrina en Lote #4
Machos con Hipoxia (Lote #3)	Sin diferencias significativas con ningún agonista	N/A	N/A	Sin diferencias significativas con ningún agonista
Hembras con Hipoxia (Lote #4)	N/A	Mayor por Angiotensina II en Lote #2 Mayor por Fenilefrina en Lote #4	Sin diferencias significativas con ningún agonista	N/A

Por último, se muestra que son las hembras hipóxicas las que poseen un mayor número de receptores α_1 -adrenérgicos disponibles para ser activados por fenilefrina a diferencia de las hembras normóxicas, sugiriendo que el aumento de la reactividad vascular, innervada por el SNS, es más eficaz cuando existe una disminución en las concentraciones de oxígeno, ya que a pesar de que las propiedades antioxidantes de los estrógenos regulan a la baja la expresión de HIF-1 α y de receptores α_1 -adrenérgicos al estabilizar a las ERO mitocondriales, existe evidencia experimental de que la expresión y las acciones transcripcionales de HIF-1 α pueden ser favorecidas por otras vías, independientemente de la presencia de ERO, siendo ejemplos la activación por señalizaciones secundarias provenientes de receptores β -adrenérgicos, los cuales son abundantes en el género

femenino, o por la acción de metabolitos oxidativos intermediarios como las acilcarnitinas de cadena larga (McCoin et al., 2015; Cheong et al., 2016), ocasionando que en condiciones hipóxicas, las CMLV femeninas posean un mayor número de receptores α_1 -adrenérgicos expresados sobre su superficie que les confiera un aumento en la reactividad vascular (Gráfica 4-B), además de que la activación de dichos receptores pareciera ser facilitada al requerir menores concentraciones de fenilefrina, ya que la potencia del agonista fue mayor que en las hembras normóxicas (Tabla 11). No obstante, el conocimiento acerca de los mecanismos compensatorios que subyacen a estas vías de señalización es prácticamente nulo, por lo que es necesario de investigaciones adicionales que aborden el tema con mucha mayor profundidad.

CONCLUSIONES

La disminución de oxígeno no genera cambios en la reactividad vascular entre los dos lotes de machos bajo los vasoconstrictores fenilefrina y angiotensina II. Sin embargo, la disminución de oxígeno sí genera una disminución de la reactividad vascular en aorta de rata en hembras, específicamente con fenilefrina. En presencia de oxígeno la reactividad vascular de la hembra es mayor a la del macho bajo angiotensina II, y en condiciones hipóxicas el efecto de los vasoconstrictores es indiferente al compararse ambos géneros.

REFERENCIAS

- Agencias Sinc. (2019). *Oxígeno, la energía que se respira*.
<https://www.agenciasinc.es/Visual/Ilustraciones/Oxigeno-la-energia-que-se-respira>
- Ahmed, M. H., Ghatge, M. S., y Safo, M. K. (2020). Hemoglobin: Structure, Function and Allostery. *Sub-cellular Biochemistry*, 94, 345–382. https://doi.org/10.1007/978-3-030-41769-7_14
- Aiello, E. A. (2018). *Canales de potasio (K^+) y calcio (Ca^{2+}) en músculo liso vascular*.
<https://www.saha.org.ar/pdf/libro/Cap.019.pdf>
- Akinaga, J., García-Sáinz, J. A., y Pupo, A. S. (2019). Updates in the Function and Regulation of α 1-Adrenoceptors. *British Journal of Pharmacology*, 176, 2343-2357.
<https://doi.org/10.1111/bph.14617>
- Albaladejo, D. J. (2012). *Transporte de gases. La hemoglobina. Bases fisiológicas*.
http://www.ffis.es/volviendoalobasico/1bases_fisiologicas2.html
- Albuquerque, A. A., Carvalho, M. T., Evora, P. M., de Nadai, T. R., Celotto, A. C., y Evora, P. R. (2016). In vitro reactivity (“organ chamber”) of guinea pig tracheal rings-methodology considerations. *Annals of translational medicine*, 4 (11), 216.
<https://doi.org/10.21037/atm.2016.05.18>
- Alleva, K., y Federico, L. (2013). Análisis estructuralista de las teorías de Hill: una elucidación de explicación en bioquímica. *Scientiae Studia*, 11 (2), 333-353.
<https://www.scielo.br/j/ss/a/gCVwDKmHTrPs9xHvQkpGPsp/?format=pdf&lang=es>
- Álvarez-Sala, J. L. (2015). Estudio del 2,3 - difosfoglicerato intraeritrocetario, con especial referencia a su papel modulador en el transporte de oxígeno en algunas situaciones clínicas. Tesis de Doctorado. Universidad Complutense de Madrid.
<https://eprints.ucm.es/id/eprint/51861/1/5301456248.pdf>
- Andrade P, A., y Bertrand N, P. (2022). Fisiología respiratoria: difusión de gases. *Neumología Pediátrica*, 17 (1), 6–8. <https://doi.org/10.51451/np.v17i1.472>

- Aplin, A. C., y Nicosia, R. F. (2014). The Rat Aortic Ring Model of Angiogenesis. *Vascular Morphogenesis*, 255–264. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1462-3_16
- Arandia, V., y Bertrand, P. (2018). Mecanismos fisiopatológicos de taquipnea. *Neumología Pediátrica*, 13 (3), 107-112. <https://www.neumologia-pediatica.cl/index.php/NP/article/download/211/202/213>
- Asenjo, C. A., y Pinto, R. A. (2017). Características anatómo-funcional del aparato respiratorio durante la infancia. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 28 (1), 7-19. <https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2017.01.002>
- Aurora Scientific. (2022). *Muscle Physiology Applications*. <https://aurorascientific.com/applications/muscle-physiology/>
- Badawi, Y., y Shi, H. (2017). Relative Contribution of Prolyl Hydroxylase-Dependent and -Independent Degradation of HIF-1alpha by Proteasomal Pathways in Cerebral Ischemia. *Frontiers in neuroscience*, 11, 239. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00239>
- Banie, L., Lin, G., Ning, H., Wang, G., Lue, T. F., y Lin, C. S. (2009). Effects of Estrogen, Raloxifene and Levormeloxifene on α 1A-Adrenergic Receptor Expression. *The Journal of Urology*, 180 (5), 2241–2246. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2008.07.020>
- Bao, H., Chen, H., Chen, M., Xu, H., Huo, X., Xu, Q., y Wang Y. (2019). Transcriptome-wide identification and characterization of microRNAs responsive to phosphate starvation in *Populus tomentosa*. *Functional & Integrative Genomics*, 19 (6), 953-972. <https://doi.org/10.1007/s10142-019-00692-1>
- Barrett, K. E., Barman, S. M., Boitano, S., y Brooks, H. L. (2010). *Ganong, Fisiología médica*. McGraw-Hill.
- Belmar, J. (2018). *Contracción del músculo liso*. http://www7.uc.cl/sw_educ/neurociencias/html/148.html
- Beltrán, L., Meza, R., García, F., Toledo, R., Manzo, J., y Morgado, C. (2012). *Mecanismos centrales de la generación del ritmo respiratorio*. <https://www.medigraphic.com/pdfs/veracruzana/muv-2012/muvs121c.pdf>

- Benito, P. J. (2014). Estudios del modelo respiratorio: nuevo método de determinación de los umbrales ventilatorios. Tesis de Doctorado. Universidad Politécnica de Madrid. <https://www.cafyd.com/tesis4pbenito/0.pdf>
- Bhutta, B. S., Alghoula, F., y Berim, I. (2022). Hypoxia. *StatPearls*. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482316/>
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., y Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5 (1), 9-19. <https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613>
- Blanco, A. (2011). *Química Biológica*. Editorial El Ateneo.
- Blot, G., Sartoris, T. M., Sennlaub, F., y Guillonneau, X. (2021). Modifications to the classical rat aortic ring model to allow vascular degeneration studies. *STAR protocols*, 2 (1), 100281. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2020.100281>
- Bonilla, M. X., López, M. M., Bermejo, D., y Sepúlveda, G. (2015). *Cómplices en el proceso de la nutrición*. Instituto Nacional para la Evaluación de la Educación. <https://www.inee.edu.mx/wp-content/uploads/2018/12/P1D418.pdf>
- Boron, W. F., y Boulpaep, E. L. (2017). *Fisiología Médica*. Elsevier.
- Bosc, L. V., Resta, T., Walker, B., y Kanagy, N. L. (2010). Mechanisms of intermittent hypoxia induced hypertension. *Journal of cellular and molecular medicine*, 14 (1-2), 3–17. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2009.00929.x>
- Brusco, A. (2014). *Histología médico-práctica*. Elsevier.
- Camilloni, I., y Vera, C. (2016). *La atmósfera*. <http://www.bnm.me.gov.ar/giga1/documentos/EL002316.pdf>
- Carbajal-García, A., Reyes-García, J., y Montaña, L. M. (2020). Androgen Effects on the Adrenergic System of the Vascular, Airway, and Cardiac Myocytes and Their Relevance in Pathological Processes. *International Journal of Endocrinology*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/8849641>

- Carranza-Aguilar, C. J., Ruiz-Quiñonez, A. K., González-Espinosa, C., y Cruz-Martín-del-Campo, S. L. (2020) Tipos de muerte celular y sus implicaciones clínicas. *El Residente*, 15 (3), 97-112. <https://doi.org/10.35366/95960>
- Chan, Y. C., Banerjee, J., Choi, S. Y., y Sen, C. K. (2012). miR-210: the master hypoxamir. *Microcirculation*, 19 (3), 215–223. <https://doi.org/10.1111/j.1549-8719.2011.00154.x>
- Chen, P. S., Chiu, W. T., Hsu, P. L., Lin, S. C., Peng, I. C., Wang, C. Y., y Tsai, S. J. (2020). Pathophysiological implications of hypoxia in human diseases. *Journal of biomedical science*, 27 (1), 63. <https://doi.org/10.1186/s12929-020-00658-7>
- Cheong, H. I., Asosingh, K., Stephens, O. R., Queisser, K. A., Xu, W., Willard, B., Hu, B., Dermawan, J., Stark, G. R., Naga Prasad, S. V., y Erzurum, S. C. (2016). Hypoxia sensing through β -adrenergic receptors. *JCI insight*, 1 (21). <https://doi.org/10.1172/jci.insight.90240>
- Cibertec. (2019). *Baños de órganos*. <https://www.cibertec.es/es/component/ciberteccatalog/bydiscipline/71/57>
- Colafella, K., y Denton, K. M. (2018). Sex-specific differences in hypertension and associated cardiovascular disease. *Nature reviews. Nephrology*, 14 (3), 185–201. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2017.189>
- Consolini, A. E., y Ragone, M. I. (2017). *Farmacodinamia general e interacciones medicamentosas. Mecanismos de acción de fármacos y metodologías de estudio experimental*. Editorial de la Universidad de la Plata. http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/67056/Documento_completo_.pdf?sequence=1#page=64
- Crosara, D. (2015). Alteraciones agudas del metabolismo del oxígeno. *Revista Mexicana de Anestesiología*, 38 (1), 17-19. <https://www.medigraphic.com/pdfs/rma/cma-2015/cmas151b.pdf>
- Cruz, L. E. (2019). Del origen de la vida al uso del oxígeno. *Periódico UNAL*. <https://unperiodico.unal.edu.co/pages/detail/del-origen-de-la-vida-al-uso-del-oxigeno/>

- De la Fuente, C. E. (2018). *Mitocondrias: más allá de la producción de energía celular*. http://www.cienciorama.unam.mx/a/pdf/555_cienciorama.pdf
- Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina. (2018). *Práctica: leyes generales de los gases y espirometría*. <http://paginas.facmed.unam.mx/deptos/fis/wp-content/uploads/2018/11/UT-II-Guia14.pdf>
- DMT. (2020). *Organ Bath System*. <https://www.dmt.dk/tissue.html>
- Dornell, J. (2021). *In vivo frente a in vitro: Definición, pros y contras*. <https://www.news-courier.com/cell-science/articles/in-vivo-vs-in-vitro-definition-pros-and-cons-350415>
- Drummond, G. R., Selemidis, S., Griendling, K. K., y Sobey, C. G. (2011). Combating oxidative stress in vascular disease: NADPH oxidases as therapeutic targets. *Nature reviews. Drug discovery*, 10 (6), 453–471. <https://doi.org/10.1038/nrd3403>
- Dueñas, C., Fortich, A., y Ortíz, G. (2014). La membrana alveolo-capilar. *Revista Colombiana de Neumología*, 26 (3), 123-139. <https://revistas.asoneumocito.org/index.php/rcneumologia/article/download/38/36/71>
- Dzhalilova, D., y Makarova, O. (2020). Differences in Tolerance to Hypoxia: Physiological, Biochemical, and Molecular-Biological Characteristics. *Biomedicines*, 8 (10), 428. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8100428>
- El-Arif, G., Khazaal, S., Farhat, A., Harb, J., Annweiler, C., Wu, Y., Cao, Z., Kovacic, H., Abi Khattar, Z., Fajloun, Z., y Sabatier, J. M. (2022). Angiotensin II Type I Receptor (AT1R): The Gate towards COVID-19-Associated Diseases. *Molecules*, 27 (7), 2048. <https://doi.org/10.3390/molecules27072048>
- Espinoza, E., Rosas, M., Cabrera, A., Uribe, C., Chiquete, N., y Uribe, S. (2014). Oxígeno, para bien y para mal. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*, 57 (6), 57-61. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0026-17422014000600057
- Ets, H. K., Seow, C. Y., y Moreland, R. S. (2016). Sustained contraction in vascular smooth muscle by activation of L-type Ca²⁺ channels does not involve Ca²⁺ sensitization or caldesmon. *Frontiers in Pharmacology*, 7 (516), 1-12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00516>

- Facultad de Medicina. (2010). *Sistema respiratorio*.
http://www.facmed.unam.mx/deptos/biocetis/Doc/Repaso_III/Teorico/NOTAS_RESP_2010.pdf
- Facultad de Química. (2013). *Catabolismo de aminoácidos*.
http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/CatabolismoAminoacidos_33995.pdf
- Fitridge, R. y Thompson, M. (2011). *Mechanism of Vascular Disease: A Reference Book for Vascular Specialist*. University of Adelaide Press.
- Foster, M. N., y Coetzee, W. A. (2016). KATP Channels in the Cardiovascular System. *Physiological reviews*, 96 (1), 177–252. <https://doi.org/10.1152/physrev.00003.2015>
- Fox, D. (2016). What sparked the cambrian explosion? *Nature*, 530, 268-271.
https://www.nature.com/news/polopoly_fs/1.19379!/menu/main/topColumns/topLeftColumn/pdf/530268a.pdf
- Franco, L. (2010). La hemoglobina: una molécula prodigiosa. *Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (España)*, 104 (1), 213-232.
<https://rac.es/ficheros/doc/00906.pdf>
- Fuentes, F., Giménez, M. J., y Prieto, J. (2018). *Modelos experimentales en farmacodinamia*.
<https://www.esteve.org/wp-content/uploads/2018/01/136896.pdf>
- García, L., Rodríguez, O., y Rodríguez, O. B. (2011). Regulación de la respiración: organización morfofuncional de su sistema de control. *MEDISAN*, 15 (4), 558-567.
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192011000400020#:~:text=La%20funci%C3%B3n%20principal%20y%20reguladora,y%20producci%C3%B3n%20de%20ambos%20gases%20
- García-Carreño, F., Sánchez, A., y Navarrete, M. (2017). La oxidación, dualidad vida y muerte. *Recursos Naturales y Sociedad*, 2 (2), 12-23.
<https://doi.org/10.18846/renaysoc.2016.02.02.02.0001>
- García, L., y Sibila, O. (2013). Mecanismos de defensa pulmonar. *Medicina respiratoria*, 6 (2), 15-24. <http://www.neumologiaysalud.es/descargas/R6/R62-3.pdf>

- Gómez, M. (2018). Efecto de la apertura de los canales KATP y el ejercicio sobre el funcionamiento muscular en la obesidad. Tesis de maestría. Universidad Michoacana de San Nicolás Hidalgo. http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/DGB_UMICH/3963/IQB-M-2018-0915.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Gort, L., y García-Villoria, J. (2017). El auge de las enfermedades mitocondriales. *Educación Continuada en el Laboratorio Clínico*, 33, 42-52. <https://www.seqc.es/download/tema/24/5609/398531545/1275540/cms/tema-5-el-auge-de-las-enfermedades-mitocondriales.pdf/>
- Greco, S., Gaetano, C., y Martelli, F. (2014). HypoxamiR regulation and function in ischemic cardiovascular diseases. *Antioxidants & redox signaling*, 21 (8), 1202–1219. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5403>
- Gusakova, S. V., Birulina, Y. G., Smagliy, L. V., Kovalev, I. V., Petrova, I. V., Nosarev, A. V., y Orlov, S. N. (2016). Regulation of Contractile Responses of Vascular Smooth Muscle Cells under Conditions of Hypoxia—Reoxygenation. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 162 (2), 195–198. <https://doi.org/10.1007/s10517-016-3574-0>
- Hall, J. E. (2016). *Guyton & Hall. Tratado de fisiología médica*. Elsevier.
- Hamanaka, R. B., y Chandel, N. S. (2009). Mitochondrial reactive oxygen species regulate hypoxic signaling. *Current opinion in cell biology*, 21 (6), 894–899. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2009.08.005>
- Hart, E. C., Charkoudian, N., Wallin, B. G., Curry, T. B., Eisenach, J., & Joyner, M. J. (2011). Sex and ageing differences in resting arterial pressure regulation: the role of the β -adrenergic receptors. *The Journal of physiology*, 589, 5285–5297. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.212753>
- Harvard Apparatus. (2022). *Tissue Bath & Perfusion Systems Selection Guide*. <https://www.harvardapparatus.com/media/harvard/pdf/Perfusion+Systems+Selection+Guide.pdf>

- Hernansanz-Agustín, P., y Enríquez, J. A. (2021). Generation of Reactive Oxygen Species by Mitochondria. *Antioxidants*, 10 (3), 415. <https://doi.org/10.3390/antiox10030415>
- Hu, D., Yin, C., Luo, S., Habenicht, A. J. R., y Mohanta, S. K. (2019). Vascular smooth muscle cells contribute to atherosclerosis immunity. *Frontiers in immunology*, 10 (1101). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01101>
- Inclán-Rubio, V., y Sampieri, R. (2021). *Transporte de O₂ y CO₂*. <http://fisiologia.facmed.unam.mx/wp-content/uploads/2021/02/6-Transporte-de-O2-Y-CO2.pdf>
- Instituto de Enseñanzas a Distancia de Andalucía. (2010). *La respiración celular y la fotosíntesis*. http://agrega.juntadeandalucia.es/repositorio/08112010/ca/es-an_2010110813_9072557/PAC_BI_U1_T5_contenidos_v05.pdf
- Iqbal, F., Gratch, Y. S., Szaraz, P., y Librach, C. L. (2017). The Aortic Ring Co-culture Assay: A Convenient Tool to Assess the Angiogenic Potential of Mesenchymal Stromal Cells In Vitro. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (127), 56083. <https://doi.org/10.3791/56083>
- Jespersen, B., Tykocki, N. R., Watts, S. W., y Cobbett, P. J. (2015). Measurement of smooth muscle function in the isolated tissue bath-applications to pharmacology research. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (95), 52324. <https://doi.org/10.3791/52324>
- Jordan, A. S., McSharry, D. G., Malhotra, A. (2014). Adult obstructive sleep apnoea. *Lancet*, 383 (9918), 736-747. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60734-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60734-5)
- Kapoor, A., Chen, C. G., y Iozzo, R. V. (2020). A simplified aortic ring assay: A useful ex vivo method to assess biochemical and functional parameters of angiogenesis. *Matrix biology plus*, 6-7, 100025. <https://doi.org/10.1016/j.mbplus.2020.100025>
- Kasper, D. L., Fauci, A. S., Hauser, S. L., Longo, D. L., Jameson, J. L., y Loscalzo, J. (2016). *Harrison. Principios de medicina interna*. McGraw-Hill Interamericana.
- Kelly, T. J., Souza, A. L., Clish, C. B., y Puigserver, P. (2011). A hypoxia-induced positive feedback loop promotes hypoxia-inducible factor 1alpha stability through miR-210

- suppression of glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1-like. *Molecular and cellular biology*, 31 (13), 2696–2706. <https://doi.org/10.1128/MCB.01242-10>
- Khodabukus, A., Prabhu, N., Wang, J., y Bursac, N. (2018). In Vitro Tissue-Engineered Skeletal Muscle Models for Studying Muscle Physiology and Disease. *Advanced healthcare materials*, 7 (15). <https://doi.org/10.1002/adhm.201701498>
- Klabunde, R. E. (2019). *Cardiovascular physiology concepts*. <https://www.cvphysiology.com/Blood%20Pressure/BP026>
- Koh, M. Y., y Powis, G. (2012). Passing the baton: the HIF switch. *Trends in Biochemical Sciences*, 37 (9), 364-372. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2012.06.004>
- Koolman, J., y Röhm, K. H. (2012). *Bioquímica humana. Texto y atlas*. Médica Panamericana.
- Lee, J., y Kang, H. (2019). Hypoxia promotes vascular smooth muscle cell proliferation through microRNA-mediated suppression of cyclin-dependent kinase inhibitors. *Cells*, 8 (8), 802. <https://doi.org/10.3390/cells8080802>
- López-Barneo, J., Ortega-Sáenz, P., González-Rodríguez, P., Fernández-Agüera, M. C., Macías, D., Pardal, R., y Gao, L. (2016). Oxygen-sensing by arterial chemoreceptors: Mechanisms and medical translation. *Molecular Aspects of Medicine*, 47-48, 90–108. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2015.12.002>
- Mackenney, J. (2021). Fisiología respiratoria. Mecánica de la respiración. *Neumología Pediátrica*, 16 (4), 142–145. <https://doi.org/10.51451/np.v16i4.458>
- Maldonado, S. O., Jiménez, V. E., Guapillo, V. M., Ceballos, R. G., y Méndez, B. E. (2010). Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana*, 10 (2), 32-39. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=29254>
- Malorni, W., Straface, E., Matarrese, P., Ascione, B., Coinu, R., Canu, S., y Franconi, F. (2008). Redox state and gender differences in vascular smooth muscle cells. *FEBS Letters*, 582 (5), 635–642. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2008.01.034>

- Maranon, R., y Reckelhoff, J. F. (2013). Sex and gender differences in control of blood pressure. *Clinical science*, 125 (7), 311–318. <https://doi.org/10.1042/CS20130140>
- Mariño, X. (2017). *Ventilación pulmonar. Intercambio y transporte gaseoso*. http://culturacientifica.org/textosudc/fisio_sistemas_tema_9.pdf
- Martínez, F., Pardo, J. P., y Rivero, H. (2018). *Bioquímica de Laguna y Piña*. Manual Moderno.
- Masoud, G. N., y Li, W. (2015). HIF-1 α pathway: role, regulation and intervention for cancer therapy. *Acta pharmaceutica Sinica*, B, 5 (5), 378–389. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2015.05.007>
- Medina, D., Mehay, D., y Arnold, A. C. (2020). Sex differences in cardiovascular actions of the renin-angiotensin system. *Clinical Autonomic Research*, 30 (5), 393-408. <https://doi.org/10.1007/s10286-020-00720-2>
- McCoin, C. S., Knotts, T. A., y Adams, S. H. (2015). Acylcarnitines--old actors auditioning for new roles in metabolic physiology. *Nature reviews. Endocrinology*, 11 (10), 617–625. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2015.129>
- Mendelsohn, M. (2012). Genomic and nongenomic effects of estrogen in the vasculature. The *American journal of cardiology*, 90 (1), 3-6. [https://doi.org/10.1016/s0002-9149\(02\)02418-9](https://doi.org/10.1016/s0002-9149(02)02418-9)
- Méndez, O. A., y Muhlia, A. (2018). Mitocondrias. El “yin-yang” de la vida. *Revista Digital de la Divulgación Científica*, 4 (1), 12-22. <https://doi.org/10.18846/renaysoc.2018.04.04.01.0001>
- Merino, J., y Noriega, M. J. (2019). *Vías metabólicas de degradación*. <https://ocw.unican.es/pluginfile.php/879/course/section/967/Tema%25204A-Bloque%2520I-Vias%2520Degradacion%2520Glucidos.pdf>
- Millán, C. (2015). Absorción intestinal de la glucosa. Transportadores de glucosa. Trabajo de Fin de Grado. Universidad Zaragoza. <https://zaguan.unizar.es/record/37006/files/TAZ-TFG-2015-3972.pdf>

- Mondragón, J. (2016). Hipoxia y cianosis. *Revista Médica Sinergia*, 1 (9), 9-12.
<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/7070357.pdf>
- Morales, S. (2013). *El oxígeno en la bioenergía celular*.
<https://www.medigraphic.com/pdfs/actamedica/acm-2013/acm031d.pdf>
- Nacional Heart, Lung, and Blood Institute. (2019). *Cómo funcionan los pulmones*.
<https://www.nhlbi.nih.gov/health-topics/espanol/como-funcionan-los-pulmones>
- Navarro, L. G., Ramírez, A., y Conde, J. (2016). Oxígeno bueno, oxígeno malo y antioxidantes. *Revista Ciencia*, 67 (2), 34-42.
https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/images/revista/67_2/PDF/OxigenoBueno.pdf
- Newsholme, P., Stenson, L., Sulvucci, M., Sumayao, R., y Krause, M. (2011). *Comprehensive Biotechnology*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00002-7>
- Nichols, C. G., Singh, G. K., y Grange, D. K. (2013). KATP channels and cardiovascular disease: suddenly a syndrome. *Circulation research*, 112 (7), 1059–1072.
<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.112.300514>
- Nogués, M. A., y Benarroch, E. (2011). Alteraciones del control respiratorio y de la unidad motora respiratoria. *Neurología Argentina*, 3 (3), 167-175.
<https://doi.org/10.1016/j.neuarg.2011.05.006>
- Noriega, M. J. (2011). *Transporte de gases en sangre*.
<https://ocw.unican.es/mod/page/view.php?id=555>
- Ornelas, M. E. (2010). *Termorregulación*.
<https://www.intramed.net/contenidover.asp?contenidoid=68018>
- Orshal, J. M., y Khalil, R. A. (2014). Gender, sex hormones, and vascular tone. *The American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 286 (2), 233-249. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00338.2003>
- Ort, D. R., Merchant, S. S., Alric, J., Barkan, A., Blankenship, R. E., y Bock, R. (2015). Redesigning photosynthesis to sustainably meet global food and bioenergy demand.

- Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112 (28), 8529-8536.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1424031112>
- Ovalle, O. (2012). *Ventilación mecánica, principios fisiológicos*.
<https://files.sld.cu/anestesiologia/files/2012/06/ventilacion-mecanica-principios-fisiologicos.pdf>
- Panlab. (2019). *Isolated organ/tissue test – organ bath*. <https://www.panlab.com/en/tests-solutions/isolated-organ-tissue-test-organ-bath>
- Pedersen, S. F. (2006). The Na⁺/H⁺ exchanger NHE1 in stress-induced signal transduction: implications for cell proliferation and cell death. The Na⁺/H⁺ exchanger NHE1 in stress-induced signal transduction: implications for cell proliferation and cell death. *Pflügers Archiv. European Journal of Physiology*, 452 (3), 249-259.
<https://doi.org/10.1007/s00424-006-0044-y>
- Pedrosa, K., y Webb, R.C. (2021). New insights into RhoA/Rho-kinase signaling: a key regulator of vascular contraction. *Small GTPases*. 12 (5-6), 458-469.
<https://doi.org/10.1080/21541248.2020.1822721>
- Pérez, E., y Fernández, A. M. (2015). *Técnicas básicas de enfermería*.
<https://www.mheducation.es/bcv/guide/capitulo/8448177851.pdf>
- Pérez, F. (2012). *Cambios en los volúmenes pulmonares durante el ejercicio en pacientes con patología cardiovascular*.
http://redi.ufasta.edu.ar:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/191/2012_K_004.pdf?sequence=1
- Pérez-Padilla, J. R., Thiri6n-Romero, I. I., Aguirre-P6rez, T., y Rodr6guez-Llamazares, S. (2020). ¿Qué tan silenciosa es la hipoxemia en COVID-19? *Neumología y Cirugía de T6rax*, 79 (2), 69-70. <https://dor.org/10.35366/94629>
- Puiss6gur, M. P., Mazure, N. M., Bertero, T., Pradelli, L., Grosso, S., Robbe-Sermesant, K., Maurin, T., Lebrigand, K., Cardinaud, B., Hofman, V., Fourre, S., Magnone, V., Ricci, J. E., Pouyss6gur, J., Gounon, P., Hofman, P., Barbry, P., y Mari, B. (2011). miR-210 is overexpressed in late stages of lung cancer and mediates mitochondrial alterations

- associated with modulation of HIF-1 activity. *Cell death and differentiation*, 18 (3), 465–478. <https://doi.org/10.1038/cdd.2010.119>
- Quesada, B. (2011). La respiración celular: Representaciones y conceptos de los estudiantes de bachillerato de la Institución Educativa Serrezuela de Madrid y de la Fundación Universitaria Juan N. Corpas. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/10188/186348.2012.pdf?sequence=1>
- Radnoti. (2015). *Tissue Organ Bath Principals*. <https://radnoti.com/wp-content/uploads/2015/06/Tissue-Organ-Bath-Principles.pdf>
- Raff, H., y Levitzky, M. (2013). *Fisiología médica. Un enfoque por aparatos y sistemas*. McGraw-Hill Educación.
- Reiriz, J. (2015). *Sistema respiratorio: anatomía y fisiología*. <https://www.infermeravirtual.com/files/media/file/97/Sistema%20respiratorio.pdf?1358605430>
- Renna, N. F., y Miatello, R. M. (2017). *Fisiología del músculo liso vascular*. <https://www.saha.org.ar/pdf/libro/Cap.036.pdf>
- Ríos-Tapia, C. F., Izquierdo-Vega, J. A., Sánchez-Gutiérrez, M., y Zúñiga-Pérez, C. (2013). Hemoglobina. *Boletín Científico Educación y Salud*, 1 (2). <https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/icsa/n2/m2.html>
- Rhoades, R. A., y Bell, D. R. (2018). *Fisiología Médica. Fundamentos de Medicina Clínica*. Wolters Kluwer.
- Rodwell, V. W., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J., y Weil, P. A. (2016). *Harper. Bioquímica Ilustrada*. McGraw-Hill Interamericana.
- Rosales, J., Medina, N., Martínez, N., Rodríguez-Quiroga, S., Córdoba, M., Vega, P., Kauffman, M. A., y González-Morón, D. (2017). Diagnóstico de las enfermedades mitocondriales: utilidad de un abordaje clínico-molecular sistematizado incorporando secuenciación de alto rendimiento. *Neurología Argentina*, 9 (4), 231-242. <https://doi.org/10.1016/j.neuarg.2017.07.001>

- Rosas, S., Vázquez, E., Peimbert, M., y Pérez, G. (2010). De la bioenergética a la bioquímica del ATP. *ContactoS*, 77 (7), 39-45. <http://ilitia.cua.uam.mx:8080/jspui/bitstream/123456789/253/1/Mariana%20Peimbert%2007atp.pdf>
- Ruíz-Siebold, P., y Canales, P. (2013). Enfermedades mitocondriales: diagnóstico diferencial de enfermedad cerebrovascular en adulto joven a propósito de un caso. *Revista Chilena de Neuro-Psiquiatría*, 51 (1), 25-31. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnp/v51n1/art04.pdf>
- Sanbe, A., Tanaka, Y., Fujiwara, Y., Tsumura, H., Yamauchi, J., Cotecchia, S., Koike, K., Tsujimoto, G., y Tanoue, A. (2009). Alpha1-adrenoceptors are required for normal male sexual function. *British journal of pharmacology*, 152 (3), 332–340. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707366>
- Sánchez, T., y Concha, I. (2018). Estructura y funciones del sistema respiratorio. *Neumología Pediátrica*, 13 (3), 101-106. <https://www.neumologia-pediatria.cl/index.php/NP/article/download/212/203/215>
- Santillán, M. L. (2021). *La capa de ozono, elemento fundamental en la dinámica atmosférica*. <https://ciencia.unam.mx/leer/1110/la-capade-ozono-elemento-fundamental-en-la-dinamica-atmosferica>
- Semenza, G. L. (2012). Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine. *Cell*, 148 (3), 399–408. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.01.021>
- Sena, L. A., y Chandel, N. V. (2012). Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen Species. *Molecular Cell*, 48 (2), 158-167. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.09.025>
- Seong, M., y Kang, H. (2020). Hypoxia-induced miR-1260b regulates vascular smooth muscle cell proliferation by targeting GDF11. *BMB reports*, 53 (4), 206–211. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2020.53.4.136>
- Sepúlveda, R. A., Barnafi, E., Rojas, V., y Jara, A. (2020). Metahemoglobinemia, una entidad de diagnóstico complejo. Reporte de un caso. *Revista Médica de Chile*, 148, 1838-1843. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rmc/v148n12/0717-6163-rmc-148-12-1838.pdf>

- Shi, W. W., Yang, Y., Shi, Y., y Jiang, C. (2012). K(ATP) channel action in vascular tone regulation: from genetics to diseases. *Acta physiologica Sinica*, 64 (1), 1–13. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4132831/>
- Schurek, H. J. (2017). *A Laboratory Manual of Kidney Perfusion Techniques*. University of Münster. <https://doi.org/10.17879/61219766654>
- Smilg, C., y Tárraga, L. (2012). *Transporte de gases. La hemoglobina. Bases fisiológicas*. http://www.ffis.es/volviendoalobasico/1bases_fisiologicas2.html
- Sodhi, C., Batlle, D., y Sahai, A. (2018). Hypoxia Upregulates AT1 Receptor Expression and Ang II Response to Osteopontin and Proliferation of Cultured Vascular Smooth Muscle (VSM) Cells. *Hypertension*, 36 (1). https://doi.org/10.1161/hyp.36.suppl_1.680-a
- Sousa, V. & Viladomat, M. (2012). La larga marcha del oxígeno en la tierra. *Oikos*, 18 (4), 27-38. <http://web.ecologia.unam.mx/oikos3.0/index.php/todos-los-numeros/articulos-antteriores/184-oxigeno-y-la-vida>
- St Paul, A., Corbett, C. B., Okune, R., & Autieri, M. V. (2020). Angiotensin II, Hypercholesterolemia, and Vascular Smooth Muscle Cells: A Perfect Trio for Vascular Pathology. *International journal of molecular sciences*, 21 (12), 4525. <https://doi.org/10.3390/ijms21124525>
- Stuart, I. F. (2014). *Fisiología humana*. McGraw-Hill Education.
- Tajada, S., Ciudad, P., Moreno-Domínguez, A., Pérez-García, M. T., y López-López, J. R. (2012). High blood pressure associates with the remodelling of inward rectifier K⁺ channels in mice mesenteric vascular smooth muscle cells. *The Journal of physiology*, 590 (23), 6075–6091. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.236190>
- Tao, J., Barnett, J. V., Watanabe, M., y Ramírez-Bergeron, D. (2018). Hypoxia supports epicardial cell differentiation in vascular smooth muscle cells through the activation of the TGFβ pathway. *Journal of cardiovascular development and disease*, 5 (2), 19. <https://doi.org/10.3390/jcdd5020019>
- Tester, D. J., Tan, B. H., Medeiros-Domingo, A., Song, C., Makielski, J. C., y Ackerman, M. J. (2011). Loss-of-function mutations in the KCNJ8-encoded Kir6.1 K(ATP) channel and

- sudden infant death syndrome. *Circulation. Cardiovascular genetics*, 4 (5), 510–515.
<https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.111.960195>
- Tiano, M. (2017). *Comment les cyanobactéries ont commencé à respirer*.
<https://www.pourlascience.fr/sd/evolution/comment-les-cyanobacteries-ont-commence-a-respirer-12586.php>
- Tinker, A., Aziz, Q., y Thomas, A. (2014). The role of ATP-sensitive potassium channels in cellular function and protection in the cardiovascular system. *British journal of pharmacology*, 171 (1), 12–23. <https://doi.org/10.1111/bph.12407>
- Tortora, G. J., y Derrickson, B. (2013). *Principios de anatomía y fisiología*. Editorial Medica Panamericana.
- Tresguerres, J. A., Ariznavarreta, C., Cachofeiro, V., Cardinali, D. P., Escrich, E., Gil-Loyzaga, P. E., Lahera, V., Mora, F., y Tamargo, J. (2010). *Fisiología humana*. McGraw-Hill Interamericana Editores.
- Universidad de Alcalá. (2018). *β -oxidación mitocondrial de ácidos grasos saturados de cadena par*. <http://biomodel.uah.es/model2/lip/acgr-b-oxidacion.htm>
- Universidad de Cantabria. (2017). *Digestión y absorción*.
<https://ocw.unican.es/mod/page/view.php?id=571#:~:text=La%20digesti%C3%B3n%20de%20los%20%C3%ADpidos,las%20enzimas%20lipol%C3%ADticas%20del%20p%C3%A1ncreas.&text=Las%20micelas%20difunden%20entonces%20en,las%20c%C3%A9lulas%20de%20las%20vellosidades>.
- Universitat de Valencia. (2020). *Oxidación de ácidos grasos*.
<https://www.uv.es/marcof/Tema20.pdf>
- Universidad Nacional de Lomas de Zamora. (2010). *Respiración celular*.
http://www.agrarias.unlz.edu.ar/archivos_descargables/material_archivos/biologia/Respiracion%20celular.pdf
- Universidad Nacional del Litoral. (2018). *Química biológica*.
http://www.unl.edu.ar/ingreso/cursos/medicina/wpcontent/uploads/sites/8/2017/10/Quimica_09.pdf

- Universidad Veracruzana. (2012). *Sistema cardiovascular*.
<https://www.uv.mx/personal/cblazquez/files/2012/01/Sistema-Cardiovascular.pdf>
- Upchurch, W. J., y Iaizzo, P. A. (2022). In vitro contractile studies within isolated tissue baths: Translational research from Visible Heart® Laboratories. *Experimental Biology and Medicine*, 247 (7), 584-597. <https://doi.org/10.1177/15353702211070535>
- Vargas, F. M., Ribeiro, R. F., Jr, Fernandes, A. A., Fiorim, J., Travaglia, T. C., Vassallo, D. V., y Stefanon, I. (2014). Na⁺K⁺-ATPase activity and K⁺ channels differently contribute to vascular relaxation in male and female rats. *PloS one*, 9 (9).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106345>
- Venegas-Pont, M., Sartori-Valinotti, J. C., Glover, P. H., Reckelhoff, J. F., y Ryan, M. J. (2010). Sexual dimorphism in the blood pressure response to angiotensin II in mice after angiotensin-converting enzyme blockade. *American journal of hypertension*, 23 (1), 92-96. <https://doi.org/10.1038/ajh.2009.203>
- Viejo, J. L. (2013). *Indicaciones y manejo de la oxigenoterapia*. Neumología Y Salud.
<http://neumologiaysalud.es/wp-content/uploads/2020/11/M8.pdf>
- Wang, J., Khodabukus, A., Rao, L., Vandusen, K., Abutaleb, N., y Bursac, N. (2019). Engineered skeletal muscles for disease modeling and drug discovery. *Biomaterials*, 221.
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119416>
- West, J. B., y Luks, A. M. (2016). *West. Fisiología Respiratoria. Fundamentos*. Wolters Kluwer.
- White, M. C., Fleeman, R., y Arnold, A. C. (2019). Sex differences in the metabolic effects of the renin-angiotensin system. *Biology of sex differences*, 10 (1), 31.
<https://doi.org/10.1186/s13293-019-0247-5>
- Wynne, F. L., y Khalil, R. A. (2013). Testosterone and coronary vascular tone: implications in coronary artery disease. *Journal of endocrinological investigation*, 26 (2), 181-186.
<https://doi.org/10.1007/BF03345150>
- Xue, B., Singh, M., Guo, F., Hay, M., y Johnson, A. K. (2009). Protective actions of estrogen on angiotensin II-induced hypertension: role of central nitric oxide. *American journal of*

- physiology. *Heart and circulatory physiology*, 297 (5).
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00502.2009>
- Yeo E. J. (2019). Hypoxia and aging. *Experimental & molecular medicine*, 51 (6), 1–15.
<https://doi.org/10.1038/s12276-019-0233-3>
- Zahumenszky, C. (2015). *Descubren por qué hay tan poco oxígeno respirable en el espacio*.
<https://es.gizmodo.com/descubren-por-que-hay-tan-poco-oxigeno-respirable-en-el-1702691061>
- Zimna, A., y Kurpisz, M. (2015). Hypoxia-Inducible Factor-1 in Physiological and Pathophysiological Angiogenesis: Applications and Therapies. *BioMed research international*, 549412. <https://doi.org/10.1155/2015/549412>