



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

FACULTAD DE CIENCIAS

RED DE REGULACIÓN GENÉTICA TIPO BOOLEANA QUE  
INTEGRE EL PROCESO INFLAMATORIO CON LOS  
SISTEMAS DE RENINA-ANGIOTENSINA Y  
CALICREÍNA-CININAS, INVOLUCRADOS EN  
HIPERTENSIÓN.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**BIÓLOGA**

PRESENTA:

**CAROLINA CABALLERO CORDERO**

TUTORES:

**DR. JUAN CARLOS MARTÍNEZ GARCÍA**  
**DRA. ROSARIO PACHECO MARÍN**

Ciudad Universitaria, CDMX, 2023





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

*Para las mujeres de mi vida de las cuales soy fruto:  
mi mamá, mis tías y Yazmín ♥*

# Agradecimientos

A la Dra. Rosario Pacheco Marín por todo el apoyo brindado tanto en el trabajo de tesis como de forma motivacional, gracias por las observaciones y el tiempo invertido. Al Biol. Arturo Arciniega González por alentarme en el camino de la programación, por los consejos y sobre todo la confianza. También agradezco el apoyo del Quim. Alexis Magaña, el Dr. Juan Carlos Martínez y de la Dra. Elena Buylla en todo el proceso de este proyecto. Finalmente agradezco al Dr. Luis Antonio Mendoza Sierra, al M. en C. David Melquiades Medina Pérez y al M en C. Sergio Hernández López miembros de mi comité de jurado por sus valiosas aportaciones al trabajo que fueron de gran ayuda.

De forma personal le agradezco a mi mamá, Aurora Caballero, por su amor incondicional y por el impulso que me dio para cada una de mis decisiones, por convertirme en la mujer completamente capaz que soy ahora y por procurarme siempre. A mis tías Gloria Caballero y María Félix Caballero y a mi prima Yazmin Celeste por escucharme, aconsejarme, acompañarme y hacerme feliz en cada momento. A mis abuelitos por siempre procurarme y a mi tío Juan Manuel por . A Mara y Aidé, por brindarme su amistad y por compartirme su amor por la Biología. A Sinaí, Emiliano y Raggi, que siempre estuvieron cada que los necesitaba, por sus consejos, su tiempo y sobre todo su amistad sincera.

# Índice general

<b>1</b>	<b>Resumen</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Introducción</b>	<b>4</b>
§2.1	Sistema Renina Angiotensina (RAS)	6
§2.1.1	Vía clásica	6
§2.1.2	Vía no clásica	7
§2.1.3	RAS y la presión sanguínea	8
§2.2	Sistema Calicreína-Cinina (KKS)	10
§2.2.1	KKS en hipertensión	12
§2.3	Sistema de inflamación	12
§2.3.1	Citocinas pro-inflamatorias	13
§2.3.2	Citocinas anti-inflamatorias	13
§2.3.3	Inflamación e hipertensión	14
§2.4	Biología de Sistemas	16
§2.4.1	Redes de regulación	17
§2.4.2	Modelos Booleanos	19
<b>3</b>	<b>Justificación</b>	<b>21</b>
<b>4</b>	<b>Hipótesis</b>	<b>22</b>

<b>5</b>	<b>Objetivos</b>	<b>23</b>
§5.1	Objetivo general . . . . .	23
§5.2	Objetivos particulares . . . . .	23
<b>6</b>	<b>Métodos</b>	<b>25</b>
§6.1	¿Por qué un modelo Booleano? . . . . .	25
§6.2	Inferencia de la red . . . . .	26
§6.3	Construcción de la red y funciones lógicas . . . . .	26
§6.4	Análisis de la dinámica de la red . . . . .	28
§6.5	Robustez de la red Booleana . . . . .	28
<b>7</b>	<b>Resultados</b>	<b>29</b>
§7.1	Resumen . . . . .	29
§7.2	Interacciones de la red. . . . .	29
§7.2.1	Moléculas constitutivas . . . . .	32
§7.3	Funciones lógicas . . . . .	33
§7.4	Atractores . . . . .	35
§7.5	Mutantes . . . . .	37
§7.5.1	Evidencia experimental. . . . .	38
§7.5.2	Simulación de ganancia y pérdida de función. . . . .	44
§7.5.3	De atractor de normotensión a hipertensión . . . . .	51
<b>8</b>	<b>Discusión</b>	<b>52</b>
<b>9</b>	<b>Conclusiones</b>	<b>57</b>
<b>10</b>	<b>Perspectivas</b>	<b>59</b>
<b>11</b>	<b>Anexo</b>	<b>82</b>
§11.1	Código para generar la dinámica de la red. . . . .	82
§11.1.1	Funciones . . . . .	82
§11.1.2	Datos . . . . .	84
§11.1.3	Código . . . . .	86

# Índice de figuras

2.1	<b>Hipertensión en México</b> . . . . .	5
2.2	<b>Sistema Renina-Angiotensina (RAS)</b> . . . . .	6
2.3	<b>Péptidos del sistema Renina-Angiotensina (RAS)</b> . . . . .	7
2.4	<b>Cinética de las enzimas que participan en la formación de los péptidos del sistema Renina-Angiotensina (RAS)</b> . . . . .	9
2.5	<b>Sistema Calicreína-Cininas (KKS)</b> . . . . .	11
2.6	<b>Sistema Booleano</b> . . . . .	20
6.1	<b>Construcción de red y funciones lógicas</b> . . . . .	27
7.1	<b>Red de sistemas RAS, KKS e inflamación</b> . . . . .	33
7.2	<b>Red de sistemas RAS, KKS e inflamación</b> . . . . .	36
12.1	Portada de artículo en Epic Series Computing . . . . .	87

# 1

## Resumen

La hipertensión se caracteriza por un aumento en la presión sanguínea, la cual depende del diámetro de los vasos sanguíneos y de la densidad de la sangre. Si el diámetro del vaso aumenta (vasodilatación), la presión que ejerce la sangre sobre las paredes de los vasos disminuye. Esto da lugar a una situación en la cual la presión es baja o normal (hipotensión/normotensión). Mientras que ante la presencia de un diámetro menor (vasoconstricción), la presión ejercida sobre los vasos es mayor, esto conlleva a un proceso de hipertensión. Tanto el estado de hipotensión/normotensión como el correspondiente a la hipertensión pueden ser considerados, desde la perspectiva conceptual propia del estudio de los sistemas dinámicos, como configuraciones de actividad estable del sistema corporal subyacente. Tal sistema dinámico está sometido a la presencia de procesos de regulación, los cuales condicionan las restricciones biomoleculares que lo sustentan. El conjunto de estos procesos de regulación participan en la homeostasis de la presión sanguínea, la cual se lleva a cabo principalmente a través de las interacciones entre los siguientes sistemas:

- **El sistema Renina-Angiotensina (RAS);** el cual consta de dos vías principalmente, la *vía clásica* que activa procesos hipertensivos por el receptor AT1R y la *vía no clásica* que contrarresta la hipertensión y activa una respuesta de hipotensión/normotensión a través de los receptores AT2R y MasR.
- **El sistema Calicreína-Cinina (KKS);** que participa en la inflamación, en señales de vasoconstricción principalmente mediada por el receptor B1R y respuestas de vasodilata-

ción que son generadas a través del receptor B2R. Además, parte de las cinasas que se unen a estos receptores, son reguladas por enzimas del sistema RAS.

- **El sistema inflamatorio;** se activa por respuestas del sistema inmune, lo que genera cambios en la permeabilidad vascular y por lo tanto, en la presión sanguínea, interconectando con los sistemas de RAS y KKS.

Las moléculas partícipes de estos sistemas dinámicos interactúan entre sí, generando como resultado un sistema complejo integrado, que puede ser estudiado y abordado a partir de los métodos formales emanados de la Biología de Sistemas. En lo que corresponde a la homeostasis de la presión sanguínea, el seguimiento de la perspectiva formal de la Biología de Sistemas permite integrar la información experimental disponible que proporciona las interacciones presentes y a partir de ella, recuperar los procesos lógicos que contiene. La conjunción de los procesos lógicos lleva a la identificación de la red dinámica que explica la fenomenología observada a través de la información experimental. Tal red, está entonces constituida por el conjunto de los distintos agentes biomoleculares y del conjunto de las interacciones (*i.e.* los procesos de regulación) entre ellas.

Con base en estudios previos de la regulación de sistemas biológicos de índole genética, en este trabajo se empleó el modelado matemático con base en redes Booleanas discretas para describir la red de regulación que subyace a la homeostasis de la presión sanguínea. Para ello, se recopilaron los componentes claves (que representan cada uno de ellos un nodo específico dentro de la red) de cada uno de los tres sistemas citados previamente a través de evidencias experimentales reportadas en la literatura. Una vez identificados los nodos de la red se caracterizaron los procesos de regulación, descritos mediante funciones lógicas. La construcción de la red que se reporta en este trabajo presenta un total de 29 especies moleculares diferentes. Tanto CPN como Renina fueron consideradas moléculas constitutivas, además, se incluyeron algunas interacciones de regulación que sólo fueron caracterizadas en procesos de inflamación sin relación directa con procesos de hipertensión o hipotensión/normotensión, y que fueron consideradas como predicciones del modelo.

Con la finalidad de validar la red detectada se realizaron simulaciones informáticas asíncronas del sistema Booleano y se obtuvieron como resultado dos atractores dinámicos (*i.e.* dos

fenotipos), esto es dos configuraciones estables de actividad de la red de interacciones. Una de tales configuraciones caracteriza a un fenotipo de hipertensión y la otra a un fenotipo de hipotensión/normotensión. Además, al realizar las simulaciones de mutaciones, tanto de ganancia como de pérdida de función de cada nodo, se obtuvieron las moléculas claves que conllevan a una transición de un fenotipo a otro y viceversa. Específicamente, moléculas del sistema de RAS tales como; ACE, ACE2, ANG-(1-9), Ang II, etc., y citocinas anti-inflamatorias (IL-10) e inflamatorias (IFN $\gamma$ ), son relevantes para tal transición. Finalmente, este modelo Booleano aporta una visión panorámica de la regulación de los sistemas RAS, KKS e inflamación ya que se pudieron representar los fenotipos de hipertensión e hipotensión reconociendo a los principales reguladores de estos fenotipos.

## 2

# Introducción

La presión arterial se define como la fuerza que ejerce la sangre contra las paredes de los vasos sanguíneos y es directamente proporcional tanto al flujo sanguíneo como a la resistencia vascular (Nadar & Lip, 2015). En cuanto a su caracterización cuantitativa, la presión sanguínea se mide en milímetros de mercurio (mm Hg) y se define por la presión sistólica y la presión diastólica<sup>1</sup>. La experiencia acumulada ha determinado de manera precisa cuáles son los niveles de presión sanguínea que se corresponden para diferentes rangos de edad en personas consideradas saludables. Esto ha hecho de la presión sanguínea, más específicamente de la presión arterial, un indicador de salud importante. En tal sentido, a nivel mundial la hipertensión arterial tiene una prevalencia de alrededor de 40 % en países de bajos ingresos. En México, se ha observado que a partir de los 40 años la prevalencia de sufrir hipertensión aumenta, siendo que más del 30 % de la población puede tener este padecimiento e incluso a partir de los 60 años esta prevalencia se duplica (ver Figura 2.1). Contando como hipertensión el rango donde la presión arterial sistólica es mayor o igual a 140 y la tensión arterial diastólica mayor o igual a 90 mmHg, mientras que la presión normal está dentro de los rangos de 120 a 139 mmHg en presión sistólica y de 80 a 89 en presión diastólica. Siendo que la hipotensión es cuando la presión sistólica está por debajo de los 120 mmHg y debajo de 80 mmHg en la presión diastólica (Campos-Nonato et al., 2021).

---

<sup>1</sup>La presión arterial sistólica (SBP) corresponde a la presión causada cuando el corazón se contrae y empuja la sangre hacia afuera. En cuanto a la presión arterial diastólica (DBP), esta se refiere a la presión de la sangre en la arteria cuando el corazón se relaja entre latidos. La media de la presión sanguínea se calcula con la fórmula estándar:  $DBP + 1/3(SBP - DBP)$

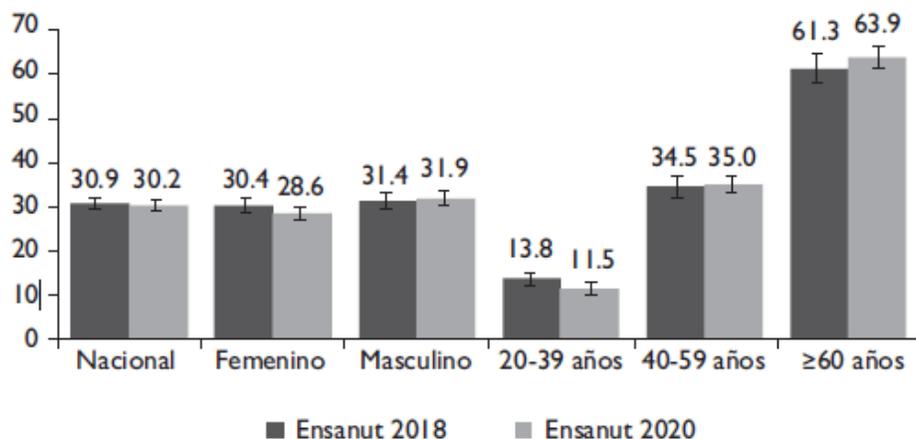


Figura 2.1: **Hipertensión en México.** Distribución de la hipertensión en la población mexicana adulta. De acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) (Campos-Nonato et al., 2021).

Como se mencionó la presión sanguínea depende tanto del flujo sanguíneo como del diámetro de los vasos sanguíneos (resistencia vascular). Así, si el diámetro del vaso aumenta (a lo cual se le conoce como vasodilatación), se produce una disminución de la presión. En cambio, la disminución del diámetro (vasoconstricción), eleva la presión sanguínea. Por lo que, la alteración en la resistencia vascular es la principal respuesta fisiológica que ejerce un cambio en la presión sanguínea para asegurar la homeostasis que en este caso se considera una retroalimentación negativa, debido a que es un mecanismo que disminuye la respuesta del sistema que puede ser presión alta-presión baja y genera mecanismos para regresar al cuerpo a la presión normal (disminuyendo o aumentando la presión según sea el caso) (Driessler et al., 2004; Wagner-Grau, 2010). Esta respuesta de índole adaptativa se puede generar por diferentes mecanismos fisiológicos y una alteración de estos puede derivar en el desarrollo de la hipertensión (Beavers et al., 2001; Harrison et al., 2021).

En cuanto a los procesos fisiológicos involucrados en la homeostasis de retroalimentación negativa de la presión sanguínea, se encuentran el sistema Renina-Angiotensina (RAS) y el sistema Caliceína-Cininas (KKS). En estos sistemas, participan una serie de proteínas y receptores que generan señalizaciones que derivan en cambios estructurales. Entre ellos, la

inflamación vascular, aumentando la resistencia vascular (o vasoconstricción) y la vasodilatación, entre otras funciones (Wagner-Grau, 2010).

## 2.1. Sistema Renina Angiotensina (RAS)

Este sistema es una secuencia de reacciones enzimáticas que está involucrado en modular la resistencia vascular y elevar el volumen sanguíneo, a partir de un incremento en la reabsorción de sodio y agua. Este sistema se ha identificado en diferentes tejidos como los músculos, el sistema nervioso, los huesos, el sistema inmune, el hígado y el sistema circulatorio (Vargas Vargas et al., 2021). RAS está regulado por dos vías: la vía clásica y la no clásica, los cuales se detallan a continuación.

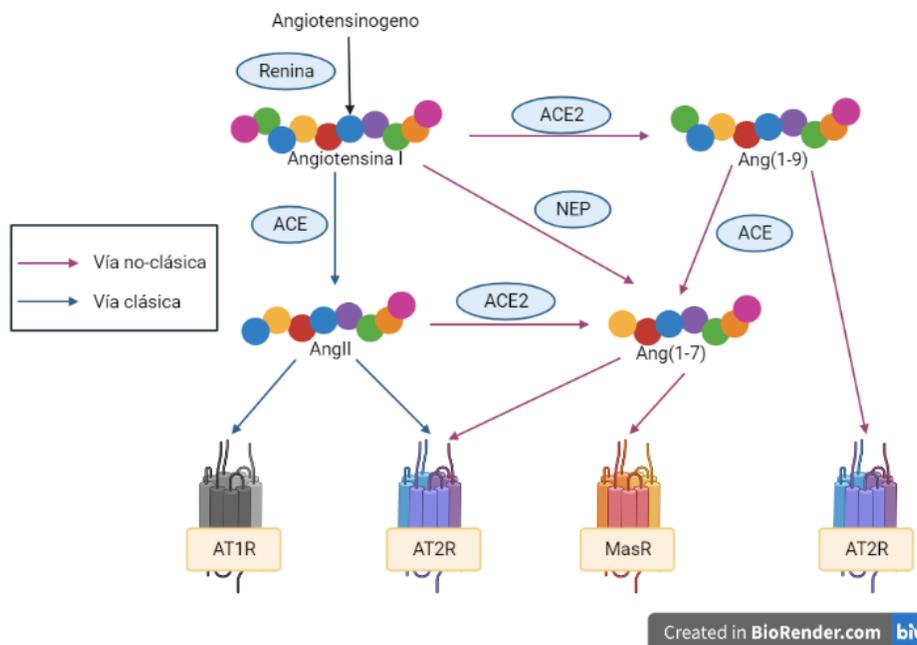


Figura 2.2: **Sistema Renina-Angiotensina (RAS)**. Imagen generada con BioRender.com, modificada de (Gheblawi et al., 2020)

### 2.1.1. Vía clásica

La vía clásica de RAS comienza con la glicoproteína angiotensinógeno (AGT) que es convertida en el péptido angiotensina I (Ang I) por la enzima renina, Ang I después es escin-

didada por la enzima convertidora de angiotensina (ACE) para formar angiotensina II (Ang II) (ver Figura 2.2 y 2.3), el principal componente de la vía clásica.

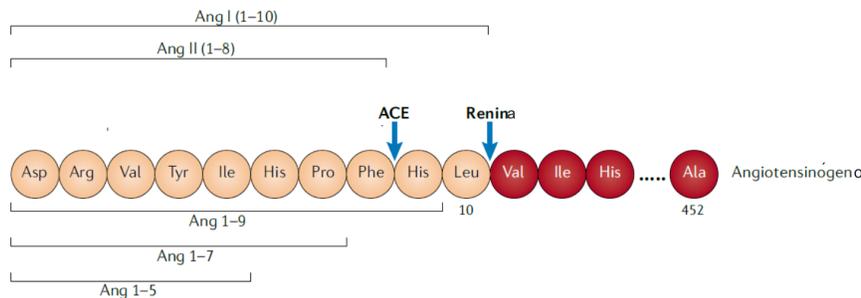


Figura 2.3: **Péptidos del sistema Renina-Angiotensina (RAS)**. Tamaño de los diferentes péptidos generados por el sistema RAS: Ang I (1-10 diez aminoácidos), Ang II (1-8 aminoácidos), etc. ACE enzima que genera Ang II y Renina enzima que genera Ang I a partir del angiotensinógeno. Imagen modificada de (Bekassy et al., 2022).

Los principales efectos de Ang II se dan por su interacción con los receptores de angiotensina acoplados a proteínas G, tales como: AT1R (receptor de angiotensina II tipo 1) y AT2R (receptor de angiotensina II tipo 2). La señalización del receptor AT1R se asocia con vasoconstricción, fibrosis, procesos inflamatorios y con un incremento de la síntesis de aldosterona. Dentro de su acción pro-inflamatoria puede inducir principalmente al factor de transcripción nuclear (NF $\kappa$ B), entre otros. Por otro lado, el receptor AT2R tiene efectos contrarios al del receptor AT1R, siendo la parte protectora de la vía clásica, ya que induce una respuesta de vasodilatación, anti-inflamación, anti-oxidación y anti-fibrótica (ver los detalles en Tabla 2.1).

### 2.1.2. Vía no clásica

La vía no clásica se compone de diferentes enzimas y péptidos mediadores; el péptido Ang I es escindido por la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) para generar angiotensina 1-9 [Ang-(1-9)], este péptido después es cortado por la enzima ACE, para obtener angiotensina 1-7 [Ang-(1-7)] (Bekassy et al., 2022) (Fig. 2.3). Además, existen vías alternas en la generación de Ang-(1-7), dado que también puede ser generada a partir de la escisión de Ang II por ACE2, o directamente de la escisión de Ang I por la endopeptidasa neutra

Receptor	Ligando	Respuesta
AT1R	AngII	Vasoconstricción generalizada, aumento en la liberación de noradrenalina de los nervios simpáticos terminales, aumento de la vasoconstricción e incremento en el rango y la fuerza de las contracciones del corazón (Kaschina et al., 2018).
AT2R	AngII	Vasodilatación, natriuresis, anti-proliferación, efectos protectores del tejido (anti- inflamatorios, anti-fibrosis, anti-apoptóticos y neuro-generación) (Kaschina et al., 2018)
MasR	Ang1-7	Vasodilatación, anti-inflamación, anti-fibrosis, anti-apoptótico y confiere efectos benéficos en enfermedades cardiovasculares (Mascolo et al., 2020)

Tabla 2.1: Receptores de la vía de RAS con su respectivo ligando y respuestas fisiológicas.

(NEP) o también llamada neprilisina (Domenig et al., 2016; Rice et al., 2004) (Fig. 2.2 y 2.4). Dentro de la vía no clásica, el péptido principal es Ang-(1-7) que es ligando del receptor acoplado a proteína G; llamado MasR, el cual una vez activado evita la liberación de citocinas pro-inflamatorias (Tabla 2.1) (Mascolo et al., 2020). Además, de modular las propiedades estructurales y funcionales de las arterias como lo es la vasodilatación (Savoia et al., 2020), se ha demostrado que su señalización está en la vasculatura, tejidos del corazón y del riñón (Patel & Hussain, 2018). Por lo tanto, la señalización de MasR contrarresta los efectos adversos de la vía clásica, contribuyendo a la homeostasis de la regulación de la presión sanguínea.

Dentro del sistema RAS otras transformaciones son derivadas a partir del angiotensinógeno, para formar diferentes péptidos que son ligandos para los receptores. Por ejemplo, el receptor MasR, tiene otro ligando, como el péptido mediador Ang-(1-5), entre otros péptidos, así como también existen otros receptores que participan dentro de la vías (Bekassy et al., 2022). En la Figura 2.4 se muestra la eficacia catalítica de las enzimas que participan en la generación de angiotensina II, incluyendo los péptidos mediadores tales como; Ang-(1-7), Ang-(1-9), Ang-(1-5) a partir de angiotensina I (Ang I) en el sistema RAS. (Rice et al., 2004).

### 2.1.3. RAS y la presión sanguínea

Los receptores del sistema RAS que se encargan de generar las respuestas fisiológicas tienen un papel fundamental en la regulación de la presión. El receptor AT1R contribuye

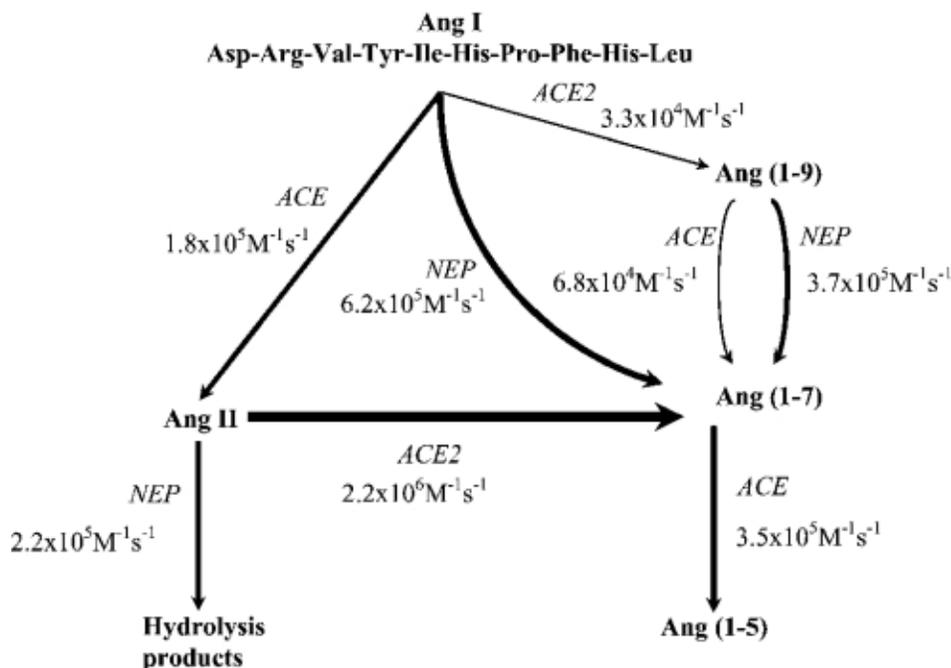


Figura 2.4: **Cinética de las enzimas que participan en la formación de los péptidos del sistema Renina-Angiotensina (RAS).** El grosor de la flecha indica una mayor eficiencia de reacción. Imagen tomada de (Rice et al., 2004).

a la patogénesis de hipertensión mediada por un aumento de Ang II ya que reduce el flujo renal de la sangre, además, de aumentar la retención de sodio, también libera aldosterona e incrementa la reabsorción de sodio en la nefrona distal (Van Haaster et al., 2018). Aldosterona participa en el remodelado vascular y por tanto en complicaciones vasculares asociadas a la hipertensión (Cediel et al., 2004). Por otro lado, AT2R y MasR poseen el efecto contrario, disminuyen la presión sanguínea y también aminoran el daño tisular en corazón o riñón a causa de la hipertensión. Por todo lo anterior, la terapia para el tratamiento de la hipertensión se enfoca principalmente en fármacos que reduzcan la activación de la vía no clásica, por ejemplo; los inhibidores de ACE como: captopril, enalapril, lisinopril o perindropil (Maroto, 2000) que evitan la generación de Ang II y los inhibidores del receptor AT1R como el losartán y sus derivados (Vázquez Vigoa et al., 1998), bloqueando la señalización de AT1R asociado a vasoconstricción, reduciendo así los efectos adversos de este receptor ante la patología.

## 2.2. Sistema Calicreína-Cinina (KKS)

Otro de los sistemas que junto con RAS participan en la regulación de la presión es KKS, el cual es un sistema compuesto de péptidos mediadores, cininas, que participan en el eje principal de la inflamación, produciendo vasodilatación, vasoconstricción, permeabilidad vascular y dolor (Campbell, 2001). Estas respuestas se llevan a cabo luego de una serie de reacciones enzimáticas que culminan en la unión de los péptidos de cininas con los receptores de bradicinina 1 (B1R o también llamado BDKRB1) y de bradicinina 2 (B2R o también conocido como BDKRB2) (Tabla 2.2). Se ha observado que el receptor B2R se encuentra de forma abundante y constitutiva en tejidos vasculares, renales y cardiacos y sus efectos son mediante la activación de componentes vasoactivos (Marceau et al., 2020). En cambio el receptor B1R se encuentra de forma constitutiva pero en pequeñas cantidades y se sobreexpresa en presencia de citocinas, endotoxinas o durante el daño tisular (Wu et al., 2012).

Receptores	Ligando	Respuesta
B1R	DABK	Promueve la inflamación de tejido, el reclutamiento de neutrófilos, la dilatación de capilares y constricción de venas. Inducido transcripcionalmente por citocinas proinflamatorias a través de factor NF-kB. (I. Duka et al., 2001).
B2R	BK	Incrementa Ca <sup>+</sup> intracelular, genera vasodilatación y permeabilidad vascular. Constitutivo. Se aumenta su expresión por citocinas, adenosín cíclico monofosfato, estrógeno y glucocorticoides.

Tabla 2.2: Receptores de la vía KKS, con su respectivo ligando y respuesta fisiológica.

Para la activación de los receptores de este sistema (B1R y B2R), se llevan a cabo las siguientes reacciones:

1. A partir del gen cininógeno (*KNG1*), se sintetizan dos tipos de cininógenos: el de alto (HMWK) y de bajo peso molecular (LMWK).
2. Cada uno de estos es incindido por la enzima de calicreína (KLKB1) generando el péptido de Bradicinina (BK) y Lys-Bradicinina respectivamente.

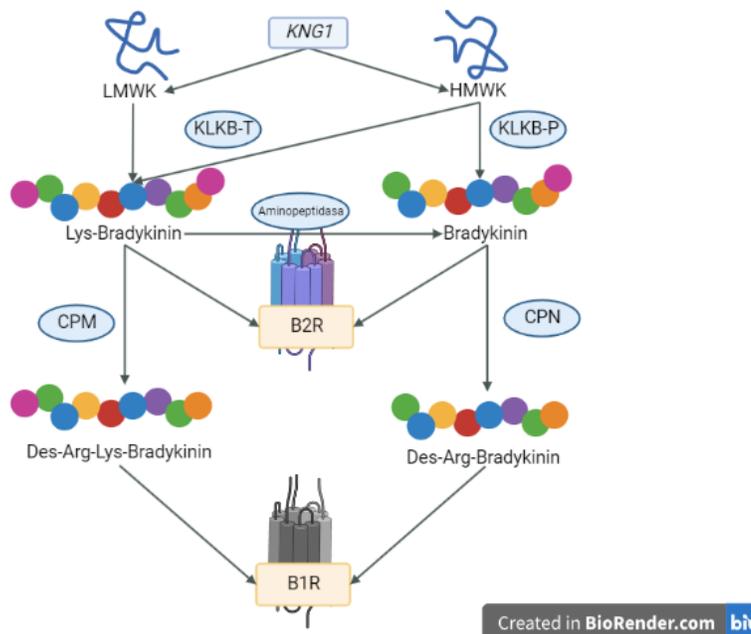


Figura 2.5: **Sistema Calicreína-Cininas (KKS)**. KLKB-T: Calicreína tisular, KLKB-P: Calicreína plasmática. Imagen generada con BioRender.com, modificada de (Campbell, 2001).

3. Estos dos péptidos son ligandos para el receptor B2R que permite la dilatación capilar y participa en la fase aguda de las enfermedades inflamatorias (van de Veerdonk et al., 2020).
4. A su vez la enzima carboxipeptidasa N (CPN) y M retiran el último aminoácido de BK y Lys-BK respectivamente, generando des-Arg9-BK (DABK) y des-Arg9-Lys-BK.
5. Estos nuevos péptidos son ligandos específicos del receptor B1R, que se expresa principalmente, en condiciones de inflamación o aumento de presión y que participa en la fase crónica de enfermedades inflamatorias (I. Duka et al., 2001). Además, su señalización es importante en el mantenimiento de la vasoconstricción en patologías que derivan en fallas del riñón (Marin-Castaño et al., 2002).

Dentro del sistema de KKS también participan las enzimas de ACE y ACE2 mencionadas anteriormente en el sistema RAS. En donde, la enzima ACE degrada a los péptidos de BK y Lys-BK evitando la respuesta de el receptor B2R. Por otro lado, ACE2 cataliza a los péptidos de DABK y des-Arg9-Lys-BK previniendo de igual manera la señalización de B1R (Fig. 2.5). Por lo tanto, los sistemas RAS y KKS interactúan, contribuyendo con la regulación de

la presión arterial.

### **2.2.1. KKS en hipertensión**

Las cininas tienen un papel importante en la regulación local del flujo sanguíneo, principalmente en órganos con abundante calicreína tisular como la glándula submandibular, el complejo uteroplacentar y el riñón (Rhaleb et al., 2011). Se ha demostrado que los inhibidores de ACE disminuyen considerablemente la presión sanguínea y aumentan las concentraciones de cininas en arterias. Además, se ha comprobado que los cambios en el flujo de la sangre y en la presión sanguínea han sido bloqueados por anticuerpos de cininas y calicreína (Rhaleb et al., 2011). Por lo tanto, se ha considerado al sistema de KKS como un factor importante en la regulación de la presión, por sus contribuciones anti-hipertensivas y efectos vasodilatadores observados principalmente cuando se dan tratamientos con inhibidores de la enzima ACE.

La hipertensión es una enfermedad compleja en la cual también participa la vía de inflamación, ya que se ha observado que uno de los marcadores que siempre se encuentran en la hipertensión son la infiltración de células del sistema inmune en células vasculares, que producen reacciones en cadena liberando proteínas conocidas como citocinas (Agita & Alsagaff, 2017), principalmente se observa la liberación de citocinas pro-inflamatorias que generan el aumento de las paredes de los vasos sanguíneos y por tanto hay un incremento en la presión sanguínea (Granger, 2006). Además esta vía se interconecta con las vías anteriores de RAS y KKS (Rhaleb et al., 2011; Satou et al., 2018),

### **2.3. Sistema de inflamación**

La inflamación es la respuesta del sistema inmune a estímulos perjudiciales como patógenos, compuestos tóxicos o daños celulares. Esta respuesta se lleva a cabo por vías de señalización que regulan los niveles de los mediadores inflamatorios en células tisulares y en células inflamatorias de la sangre. Dentro de los eventos que ocurren por una respuesta inflamatoria, se encuentran los cambios en la permeabilidad vascular, reclutamiento y acumulación de leucocitos y liberación de mediadores inflamatorios. Las vías de inflamación participan en

la patogénesis de varias enfermedades crónicas que tienen en común mediadores inflamatorios y vías de regulación (Chen et al., 2018). Dentro de las vías de inflamación participan las citocinas (pequeñas proteínas), que son liberadas por células del sistema inmune, algunas citocinas tienen una actividad parcialmente redundante, es decir, algunas comparten funciones (J.-M. Zhang & An, 2007). Las citocinas están involucradas en varios procesos celulares desde la inflamación hasta el daño de los tejidos o la regeneración (Tanase et al., 2019)

### 2.3.1. Citocinas pro-inflamatorias

Las citocinas pro-inflamatorias son producidas principalmente por macrófagos activados que están involucrados en la regulación de reacciones inflamatorias (J.-M. Zhang & An, 2007). Una vez que el estímulo inflamatorio es detectado, comienza la activación de células inmunes que segregan citocinas inflamatorias como interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ), interleucina 6 (IL-6), y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), las cuales actúan a través de sus receptores y activan a diferentes vías de señalización como es la activación del factor nuclear kB (NF $\kappa$ B) (Chen et al., 2018), uno de los principales factores presente en las respuestas inmunes crónicas y enfermedades inflamatorias (Luft, 2001) (Tabla 2.3).

Citocina	Función
IL-1 $\beta$	Pro-inflamación, proliferación, apoptosis, diferenciación
IL-6	Pro-inflamación, diferenciación, producción de citocinas
IL-10	Anti-inflamación, inhibición de citocinas pro-inflamación
TNF- $\alpha$	Pro-inflamación, producción de citocinas, proliferación celular, apoptosis, anti-infección
IFN $\gamma$	Pro-inflamación, inmunidad adaptativa e innata anti-viral

Tabla 2.3: Citocinas y sus funciones, modificada de (Chen et al., 2018)

### 2.3.2. Citocinas anti-inflamatorias

Por el contrario, las citocinas anti-inflamatorias son una serie de moléculas inmunoregulatoras que controlan la respuesta pro-inflamatoria. Dentro de este grupo, se encuentran citocinas como interleucina 4 (IL-4), interleucina 10 (IL-10) o interleucina 11 (IL-11). Se ha

observado que IL-4 tiene destacados efectos inhibitorios sobre las citocinas pro-inflamatorias, ya que puede suprimir citocinas pro-inflamatorias como IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6, entre otras, siendo un posible adyuvante para el tratamiento de enfermedades malignas (Opal & DePalo, 2000). Por otro lado, IL-10 es una citocina con poderosas propiedades anti-inflamatorias, reprime la expresión de citocinas inflamatorias como TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1, asimismo, disminuye la regulación de receptores de citocinas pro-inflamatorias, por lo que, IL-10 puede regular la producción y función de las citocinas pro-inflamatorias a diferentes niveles (J.-M. Zhang & An, 2007) (Tabla 2.3).

### 2.3.3. Inflamación e hipertensión

La inflamación también contribuye con el proceso de hipertensión y parte del mecanismo que interrelaciona a los sistemas de RAS y KKS con el sistema inmune han sido definidos. Diferentes tipos celulares expresan los receptores AT1R, AT2R, MasR, B1R y B2R, incluyendo las células endoteliales de órganos como el corazón, pulmón, riñón y células del sistema inmune; como son los linfocitos T, células dendríticas, macrófagos, entre otras (Patel & Hussain, 2018; Rhaleb et al., 2011; Satou et al., 2018).

Señalizaciones a partir de la unión de Ang II con el receptor AT1R, o bien el péptido DABK en el receptor B1R generan una respuesta inflamatoria, a través de la activación del factor de transcripción NF $\kappa$ B, que a su vez estimula citocinas pro-inflamatorias tales como: IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , entre otras, generando hipertensión junto con una respuesta de inflamación crónica (Granger, 2006; Luft, 2001). En contraste, se ha observado que en condiciones de hipertensión, generadas por un aumento de AngII, la sobreexpresión de IL-10 puede disminuir el aumento de presión sanguínea (Shi et al., 2010), siendo considerado como un posible regulador de la presión. Inclusive, se ha comprobado que las citocinas también pueden intervenir en la activación de ciertos componentes del sistema RAS y de KKS, por ejemplo, se ha comprobado que el factor de transcripción NF $\kappa$ B a través de citocinas inflamatorias como IL-1 $\beta$  es capaz de activar a ACE (Garcia et al., 2016) y por tanto a la vía clásica del sistema RAS. En el caso del sistema KKS, es sabido que el receptor B1R se puede sobreexpresar por estímulos inflamatorios, dentro de los que participan IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  y NF $\kappa$ B (Ni et al., 1998;

Phagoo et al., 2000). Estas interacciones son consideradas de retroalimentación, incrementando componentes de ambos sistemas de manera cíclica.

Integrar y comprender las interacciones que existen entre los componentes de los tres sistemas involucrados en la homeostasis de la presión sanguínea, esto es: **Renina-Angiotensina, Calicreína-Cininas e Inflamación**, genera una completa visualización del sistema donde se puedan apreciar las interconexiones y retroalimentaciones del sistema, que son fundamentales en el estudio de enfermedades complejas tales como la hipertensión, ya que se puede representar el comportamiento de cada molécula dentro del sistema que la contiene. Por lo tanto, el estudio de estos sistemas en conjunto se hace a través de la aplicación del enfoque de la Biología de Sistemas (Álvarez-Buylla et al., 2018), cuyo objetivo es dar sentido a los datos experimentales mediante métodos formales basados en el uso de herramientas matemáticas y computacionales. Estos métodos se orientan a la construcción de modelos de naturaleza predictiva de procesos biológicos complejos (Huang & Kauffman, 2012). El comportamiento del sistema biológico de interés depende de los componentes e interacciones que hay en el mismo. El sistema de la presión sanguínea ya ha sido descrito en diversas investigaciones. Dentro de las aproximaciones de estudio se cita el trabajo de Bekassy et al., 2022, quienes ofrecen un enfoque que integra la información existente de los tres sistemas mencionados anteriormente a través de una revisión que describe el papel de interacción del sistema Renina-Angiotensina, Calicreína-cinina y el sistema complemento (inflamación). Dichos sistemas involucrados en diferentes procesos biológicos, como el angioedema hereditario (AEH), COVID-19, entre otros. Por su parte, Botzer et al., 2018 generó un modelo en el que se recopilaron los datos de los genes que participan en el proceso fisiológico, además estos genes fueron diferenciados en sistemas o subsistemas que componen la regulación de la presión sanguínea. Los modelos booleanos se han utilizado ampliamente en el campo de Biología de Sistemas en procesos como: el ciclo celular de la levadura (Li et al., 2004); la diferenciación celular en la transición epitelio-mesénquima (Joo et al., 2018); la respuesta de la resistencia ante patógenos de *Arabidopsis thaliana* (Timmermann et al., 2020). En estos trabajos se pudieron predecir patrones de actividad de los genes o proteínas que subyacen al sistema de estudio, revelando la importancia y utilidad de estos modelos en los sistemas biológicos. Las redes booleanas consisten

en un conjunto de nodos cuyo estado es discreto y es determinado por el conjunto de los nodos de la red. Esto a través de la acción de funciones Booleanas (R.-S. Wang et al., 2012), las cuales capturan los procesos de regulación comprendidos en términos de funciones lógicas. El conjunto de estos nodos y sus funciones determinará en consecuencia el comportamiento de la red y por tanto del propio sistema.

## 2.4. Biología de Sistemas

En la Biología, el estudio de los procesos biológicos se ha llevado a cabo con el fundamento reduccionista, donde el fenómeno bajo estudio se divide en pequeñas partes estudiando específicamente el comportamiento de una molécula con otra molécula (esto en el contexto del estudio de la fenomenología biomolecular). Por lo tanto, a lo largo de los años se ha generado una gran acumulación de información proveniente de la experimentación científica. Al conjuntar esta información se puede conocer a nivel sistémico los procesos biológicos (Székely Jr & Burrage, 2014). El objetivo de la Biología de Sistemas es integrar los datos experimentales con métodos formales para construir modelos predictivos de procesos biológicos complejos a través de una variedad de escalas temporales y espaciales (Álvarez-Buylla et al., 2018; Huang & Kauffman, 2012). Es decir, se conjunta toda la información ya disponible para poder describir la dinámica de un sistema biológico de manera global utilizando modelos matemáticos y computacionales. Para realizar el modelo de un proceso biológico es necesario conocer las características específicas de los componentes del sistema (genes, factores de transcripción, proteínas, etc.) y las interacciones que hay entre ellos (tales como inhibiciones, activaciones o autorregulaciones (Méndez Rangel, 2014).

En cuanto al herramental técnico del cual se sirve el proceso de modelado de los sistemas biológicos, se puede realizar con modelos continuos, estocásticos o discretos. La elección del método de modelado matemático (así como la del método de simulación computacional correspondiente) está determinado por los aspectos del sistema biológico que se quiere representar y por los problemas concretos que se quieren resolver. La elección del método está también condicionada por consideraciones relativas a escala y a la complejidad del fenómeno

en cuestión, así como por los recursos computacionales y matemáticos disponibles (Székely Jr & Burrage, 2014). En cuanto a la clase de modelos posibles, se tiene lo siguiente:

**Modelos continuos.** En este caso se utilizan ecuaciones diferenciales ordinarias, donde cada variable del sistema representa la concentración de una biomolécula particular y el resultado final de este sistema son ecuaciones diferenciales no lineales con una gran cantidad de constantes que representan parámetros del sistema (como la concentración de las moléculas), por lo tanto, estas ecuaciones requieren de métodos numéricos para ser analizados (Macauley et al., 2019). Sumado a la necesidad de caracterizar de manera precisa los parámetros involucrados.

**Los modelos estocásticos.** Estos se basan en la *heterogeneidad*, es decir la diferencia a la que llega un sistema biológico a cualquier escala (desde molecular hasta poblacional). Se ha observado que la heterogeneidad está dada por tres factores; genéticos, ambientales y estocásticos o mejor conocido como *el azar*, que proviene de las fluctuaciones térmicas a nivel de moléculas individuales, esto factores se conocen como *ruido* y generan variabilidad en cuanto a función. Por lo tanto, estos sistemas representan la dinámica de la red desde el nivel genético hasta los elementos aleatorios (Székely Jr & Burrage, 2014). Es importante puntualizar que a nivel biomolecular la fenomenología biológica es intrínsecamente estocástica.

**Modelos discretos.** Mediante esta clase de modelos se realiza la simplificación de la complejidad biológica, ya que se representan valores que pertenecen a un conjunto de estados en un tiempo específico que refleja los umbrales de la actividad de cada entidad (Huang & Kauffman, 2012). Por ejemplo, se puede hablar de dos estados para un gen, expresado o no expresado; o tener tres estados distinguiendo niveles de expresión: bajo, medio y alto (Bornholdt, 2008).

### 2.4.1. Redes de regulación

En los seres vivos se ha observado que algunos genes, como aquellos que se expresan para funciones celulares indispensables siempre se transcriben y otros solo se transcriben cada

que se necesitan. Por consiguiente, para que un gen se transcriba requiere estar regulado por otros factores que lo activen o lo inhiban dependiendo de los estímulos que reciba el organismo, los cuales pueden ser ambientales, genéticos, etc., a esto se le conoce como regulación genética (Macauley et al., 2019). Así, una red de regulación genética integra la información referente a la naturaleza reguladora de las moléculas que la conforman: genes, proteínas, células, inclusive los RNAs no codificantes, entre otros (Albert, 2004). De esta manera, una red contiene **nodos**, que son los elementos que constituyen al sistema, en el caso de un sistema biológico los nodos son las biomoléculas (enzimas, proteínas, factores de transcripción, etc.) y **aristas** representadas con flechas, las cuales unen a cada elemento de la red y que reflejan la interacción (activación o inhibición) que tiene un nodo con otro, por ejemplo: en el caso de un factor de transcripción positivo que ayuda a la expresión de un gen, tendría una interacción de activación con el gen al que está expresando. Este conjunto de nodos y aristas originan la estructura de la red a lo que se le conoce como **topología** (Huang & Kauffman, 2012).

La red también se compone de una serie de reglas que rigen el comportamiento de cada nodo dentro del sistema y que representan el modo en que los reguladores afectan la “activación/expresión” o “desactivación/inhibición” del nodo a partir de las interacciones con cada uno, a esto se le conoce como la **arquitectura** de la red (Huang & Kauffman, 2012). Los modelos de redes incorporan el conocimiento experimental de un sistema biológico sobre los nodos y sus interacciones (como activación o inhibición), permitiendo conocer el estado o los estados a los que llega el sistema, que en términos biológicos se definiría como un fenotipo del proceso biológico de interés, incluso simula el comportamiento dinámico de este sistema a lo largo del tiempo con las actualizaciones de los estados de cada nodo dentro de la red (Albert, 2004). En 1969, el biólogo teórico Stuart Kauffman propuso modelar las redes de regulación genética utilizando funciones Booleanas (Macauley et al., 2019), es decir, haciendo uso de un modelo discreto que describe las interacciones entre los agentes biomoleculares (nodos), mediante funciones lógicas. En lo que sigue describimos lo correspondientes a los modelos Booleanos.

### 2.4.2. Modelos Booleanos

Una red Booleana consiste en un conjunto de nodos cuyo estado es discreto, el comportamiento de cada nodo está determinado por otros nodos a través de funciones Booleanas (R.-S. Wang et al., 2012). El estado binario de cada nodo puede tener el valor de 1 (activado) y 0 (inhibido), donde el valor 0 o 1 representa su abundancia en el sistema o su comportamiento (ejemplo: muy abundante/expresado (1) o poco abundante/no-expresado (0)) (Xiao, 2009).

$$V = \{x_1, x_2, \dots, x_n\}; i = 1, 2, \dots, n, x_i \in \{1, 0\}. \quad (2.1)$$

En la Ecuación 2.1,  $V$  representa el sistema que está compuesto de  $n$  nodos  $x_i$ . Cada nodo  $x_i$  tiene un estado de 1 o 0. Cada uno de estos nodos es regulado por otro(s) nodo(s) dentro del sistema por lo que, el valor del nodo  $x_i$  para el tiempo  $t + 1$  está determinado por los nodos reguladores en el tiempo  $t$ , a través de una función Booleana (o lógica). Por lo tanto, el nodo  $x_i$  depende de las conexiones que tenga con los demás nodos dentro del sistema y el tipo de relación que tiene con ellos (activación o inhibición). Es decir, el comportamiento de cada nodo  $x_i$  va a depender de la interacción que tenga con sus reguladores (cuyo conjunto podría también incluir al mismo nodo  $x_i$ ) y del estado de los mismos. Una función Booleana también puede ser representada por una tabla de verdad, donde cada fila contiene una combinación de valores de las variables que están asociadas al valor de salida del nodo  $x_i$ . Las tablas de verdad de una función Booleana con  $k$  variables tiene  $2^k$  filas (por todas las combinaciones posibles de 0's y 1's) y  $k + 1$  columnas (que son las columnas de las variables que afectan al nodo y el comportamiento de salida del nodo) (R.-S. Wang et al., 2012). Estas funciones que representan a las interacciones reguladoras son definidas como un conjunto de funciones lógicas que utilizan AND (Y), OR (O) y NOT (NO) (Fig. 2.6).

En general, una red Booleana está definida como un vector  $\beta(V, f)$ , siendo  $f$  las funciones que posee la red  $f = (f_1, \dots, f_n)$  y  $V$  representado en la Ecuación 2.1. la evolución de la red a lo largo del tiempo, esto es  $x(t) = (x_1(t), \dots, x_n(t))$ , está determinado por las funciones  $f$  y se

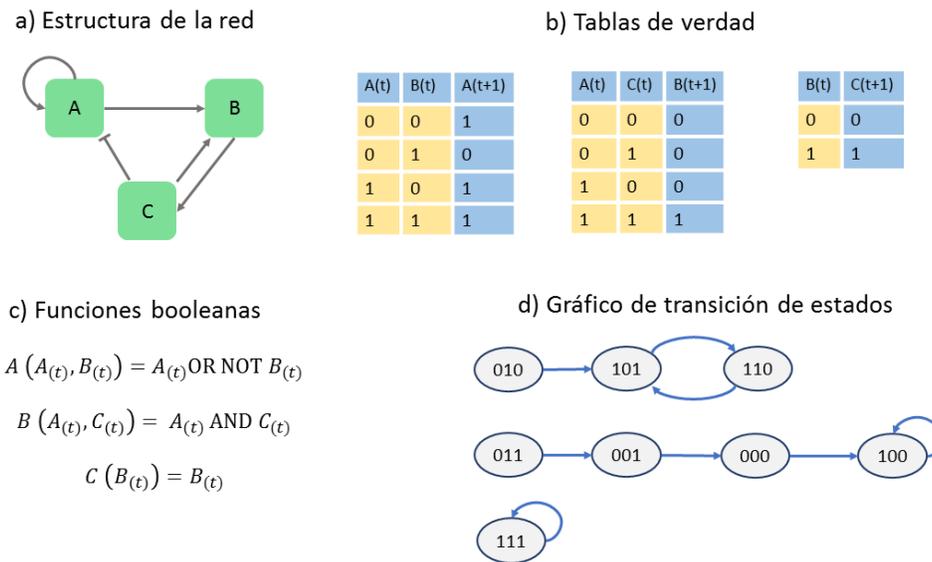


Figura 2.6: **Sistema Booleano**. Compuesto de 3 nodos ( $A$ ,  $B$  y  $C$ ), modificado de (R.-S. Wang et al., 2012).

representa mediante la relación de actualización del estado de actividad:

$$x(t + 1) = f(x(t)).$$

En donde, el estado de un sistema en el tiempo  $t$  se puede observar como un vector de 1's y 0's donde cada valor representa el estado ON (activo)/OFF (inactivo) de cada nodo. Todos los posibles estados a los que puede llegar un sistema están determinados y forman un conjunto de cardinalidad igual a  $2^n$ . Con la actualización de cada uno de los nodos en el paso del tiempo, el modelo evoluciona eventualmente hasta llegar a un estado estable o un conjunto de estados recurrentes, a lo cual se le conoce como **atractor**. El conjunto de estados iniciales que llegan a un atractor específico se le conoce como cuenca de atracción del atractor (R.-S. Wang et al., 2012).

En términos biológicos un atractor o conjunto de atractores a los que llega el modelo Booleano puede representar un fenotipo, siendo así que, el comportamiento de un sistema biológico puede ser representado de forma cualitativa.

# 3

## Justificación

Este proyecto de investigación se centra en establecer un modelo Booleano que comprenda la integración de las vías Renina-Angiotensina, Calicreína-Cininas y el proceso de inflamación. El propósito del modelo es ofrecer información relevante sobre la regulación de la presión sanguínea. Con ello, se tendrá un mejor entendimiento de los procesos dinámicos a nivel biomolecular que potencian la transiciones entre los fenotipos de hipertensión e hipotensión/normotensión. La información generada, puede ser una primera etapa para ser utilizada posteriormente en; el diseño de terapias, la concepción de tratamientos de índole clínica eficientes y el diagnóstico oportuno. Todo ello priorizando en cada caso el enfoque preventivo.

# 4

## Hipótesis

Existe la información experimental necesaria de las interacciones entre los sistemas Calicreína-Cinina, Renina-Angiotensina e inflamación para poder construir una red Booleana que caracterice el proceso de regulación de la presión sanguínea. Además, de que esta red pueda poseer al menos dos atractores correspondientes a los fenotipos de hipertensión y normotensión/hipotensión.

# 5

## Objetivos

### 5.1. Objetivo general

Determinar mediante la dinámica de redes de regulación genética tipo Booleana, la integración de las interacciones involucradas en el proceso inflamatorio con los sistemas de renina-angiotensina y calicreína-cininas, asociadas con la hipertensión.

### 5.2. Objetivos particulares

1. Realizar una revisión exhaustiva de la literatura científica disponible y recopilar la información experimental que fundamente las interacciones funcionales que integran el proceso dinámico de regulación de la respuesta inflamatoria con los sistemas renina-angiotensina (RAS), calicreína-cininas (KKS), que subyacen a la homeostasis de la presión sanguínea.
2. Construir las tablas de verdad con los datos recopilados para con estas determinar las funciones lógicas que describen las interacciones entre las moléculas que caracterizan a la hipertensión e hipotensión/normotensión.
3. Determinar la topología y arquitectura de la red, para poder establecer la dinámica de las interacciones entre moléculas de los sistemas RAS, KKS e inflamación.

4. Simular la dinámica de la red tipo silvestre y verificar con lo reportado en literatura, priorizando la caracterización de los fenotipos de hipertensión e hipotensión/normotensión.
5. Validar el modelo con simulaciones de ganancia y pérdida de función de cada nodo de la red y contrastarlos con los datos de los ensayos de mutaciones reportados en literatura.

# 6

## Métodos

### 6.1. ¿Por qué un modelo Booleano?

Existen sobradas evidencias de que, en el cuerpo humano, el sistema de presión sanguínea posee mecanismos de regulación fisiológica específicos que en conjunto definen aquello a lo que se ha denominado *homeostasis de la presión sanguínea* (Burlando et al., 2019). Esta regulación se lleva a cabo por diferentes sistemas que han sido estudiados de forma aislada, que son RAS, KKS e inflamación. Por lo tanto, para generar un modelo formal que pueda ofrecer información del comportamiento a través del tiempo de forma cualitativa de la presión sanguínea es necesario construir un modelo determinista. Ahora bien, para este modelo también se requiere conocer la identidad de los componentes y los cambios de abundancia o actividad de cada uno de ellos (Méndez Rangel, 2014). Con la información generada a lo largo del tiempo para estos componentes moleculares, se dedujo que para que haya uniformidad se establecerían dos estados para cada componente (activado e inhibido), lo que resulta en un modelo Booleano discreto que permite caracterizar de manera cualitativa los dos estados de presión alta (hipertensión) y presión baja (hipotensión/normotensión) reportados en la literatura científica disponible, los cuales se presentan como atractores dinámicos de la red de regulación subyacente y que como tales se corresponden con fenotipos bien identificados.

## 6.2. Inferencia de la red

Con diferentes bases de datos tales como; *PubMed*, *Wiley Online Library*, *Google Scholar*, *Ingenuity Pathway Analysis* («<https://digitalinsights.qiagen.com/coronavirus-network-explorer/>», s.f.), se realizó una búsqueda exhaustiva para obtener evidencias experimentales de las moléculas e interacciones claves, considerando tanto enzimas, péptidos mediadores, receptores, citocinas, etc., que participan en los tres sistemas arriba mencionados (RAS, KKS e inflamación), priorizando y focalizando en aquellas moléculas que caracterizan los procesos de aumento o disminución en la presión sanguínea integrando la inflamación. Además, se capturaron algunas de las interacciones que no se han reportado para estos fenotipos, pero que están altamente relacionadas con las moléculas claves y que principalmente fueron involucradas en el proceso de inflamación, las cuales fueron interacciones inferidas y consideradas como predicciones para el modelo Booleano. Obteniendo así un conjunto de moléculas que pertenecen a los tres sistemas y que tienen interacciones entre sí en la regulación de la presión sanguínea.

## 6.3. Construcción de la red y funciones lógicas

Una vez obtenidas las interacciones dentro del sistema se realizó la representación gráfica del sistema utilizando el software *yEd Graph*, en la cual se plasmó la topología de la red (los nodos y las interacciones que había entre estos). Por otro lado, para caracterizar la arquitectura de la red se establecieron las funciones lógicas para cada uno de los nodos, en estas funciones lógicas se sintetizaron los datos obtenidos experimentalmente de forma que cada interacción pueda ser representada con los operadores lógicos *AND* (&), *OR* (|) y *NOT* (!). Para ello, se realizaron tablas de verdad que mostraban el comportamiento de cada nodo a lo largo del tiempo con base en sus elementos reguladores. Por ejemplo, en la Figura 6.1 se realiza la inferencia de una red ficticia con dos nodos *A* y *B* con sus respectivas interacciones. En un caso concreto, una vez que se recupera la información experimental de estos nodos se plasma en las tablas de verdad, obteniéndose una tabla de verdad para cada nodo. Cada una de estas tablas resume todas las combinaciones posibles de estados de cada nodo (0 y 1)

obteniendo un total de  $2^n$  combinaciones, siendo  $n$  el número total de elementos reguladores. En el caso de la tabla para el nodo  $B$  (Fig. 6.1 (b)) hay un total de  $2^2 = 4$  filas. Continuando con el ejemplo, con base en la literatura científica (o gracias a experimentos bien concebidos y bien ejecutados en laboratorio) se obtienen los valores de la columna  $B(t + 1)$  que representan el comportamiento de este nodo dada la expresión (1) o no-expresión (0) de los nodos reguladores. Una vez que se tiene este vector de 0's y 1's se establece la función lógica correspondiente con base en la álgebra Booleana. En el ejemplo ficticio la función resultante está dada por  $B_{(t+1)} = A_{(t)} \& B_{(t)}$ . La cual significa que  $B$  en el tiempo siguiente necesita de la activación de  $A$  y de la activación de  $B$ .

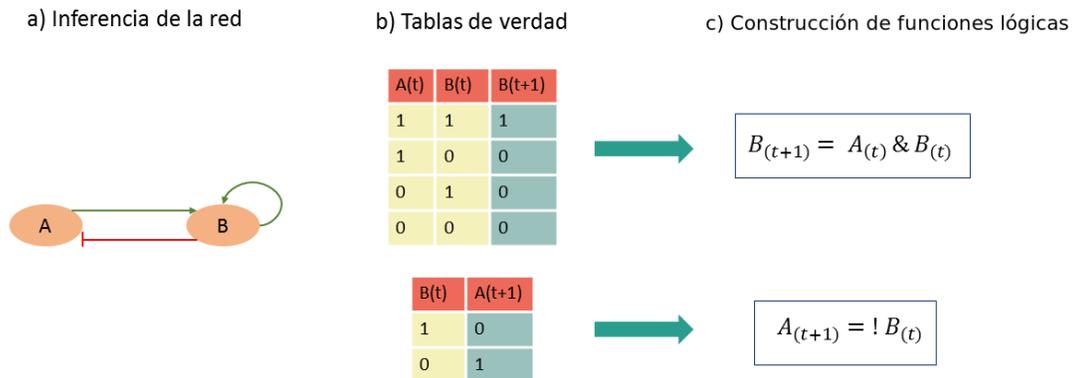


Figura 6.1: **Construcción de red y funciones lógicas.** Esta figura muestra el proceso mediante el cual se caracterizan las funciones lógicas que determinan el comportamiento de las redes Booleanas discretas.

Una vez caracterizada una red Booleana discreta para la información disponible, se procede a analizar su comportamiento con la finalidad de verificar si la red describe efectivamente lo que ha sido descrito por ella.

## 6.4. Análisis de la dinámica de la red

Una vez que se tienen las funciones lógicas que definen la actividad de cada uno de los nodos que constituyen la red bajo estudio, se procede a estudiar el comportamiento de la red a lo largo del tiempo. Para ello, se realiza la simulación computacional del modelo, en lo que concierne a este reporte de tesis se utiliza la librería *Boolnet* integrada al lenguaje de programación *R* (Mussel et al., 2010). Este análisis se realiza de manera asíncrona, es decir, que la actualización del estado de los nodos de la red se realiza de forma aleatoria y en diferente tiempo. Esto se justifica por el hecho de que en las redes biomoleculares de regulación las respuestas de los diferentes tipos moleculares dentro de este sistema (enzimas, receptores) tienen una diferencia en el tiempo de respuesta a nivel biológico. Los atractores dinámicos de la red (esto es las configuraciones de actividad estables) se etiquetan entonces con base en los marcadores moleculares descritos en la evidencia experimental, donde la activación o inhibición de cierto nodo se asocia a un fenotipo de hipertensión o hipotensión/normotensión. Para este proceso, se utilizan las funciones reportadas en el Anexo 11.

## 6.5. Robustez de la red Booleana

Para la validación de un modelo Booleano de una red genética específica se realizan diversas perturbaciones en la red correspondiente. Esto corresponde a simulaciones de pérdida y ganancia de función de cada elemento de la red. Para el caso que concierne este reporte se utiliza la función de *fixGenes()* de la librería *Boolnet*. En las simulaciones de ganancia de función se coloca el valor constante de 1 en el nodo a analizar, por el contrario, con las simulaciones de pérdida de función se emplea el valor de 0 para el nodo a analizar (Méndez & Mendoza, 2016; Méndez Rangel, 2014). La función empleada para generar todos los mutantes se encuentra en el Anexo 11.

Una vez obtenidos los atractores de cada mutación estos se comparan con la evidencia experimental de pérdida y ganancia de función de cada molécula, dando prioridad al fenotipo que se está determinando, de presión alta o de presión normal/baja, y si este resultado se asocia con las simulaciones de cada nodo (Méndez & Mendoza, 2016).

# 7

## Resultados

### 7.1. Resumen

La red construida, que integra a los tres sistemas; RAS-KKS e inflamación, consta de 29 moléculas (nodos) de ellos, Renina y CPN se consideraron moléculas constitutivas y se obtuvieron en total 67 interacciones. Con las simulaciones del modelo se obtuvieron dos atractores; en donde el patrón de expresión de cada atractor representó los fenotipos de hipertensión y el otro de hipotensión/normotensión. En la prueba de robustez haciendo las simulaciones de mutación tanto de ganancia y pérdida de función, se encontró que las moléculas que pertenecían al sistema RAS eran indispensables en la regulación de la presión (ACE, ACE2, ANG II, entre otras), así como moléculas claves anti-inflamatorias (IL-10) e inflamatorias (IFN $\gamma$ ).

### 7.2. Interacciones de la red.

Para este sistema se consideraron 29 nodos que comprenden enzimas, péptidos, péptidos mediadores, receptores, citocinas y factores de transcripción; de los cuales se obtuvieron un total de 67 interacciones que interconectan a los tres sistemas (RAS, KKS e inflamación) (Tabla 7.1). Cabe mencionar que de este conjunto de interacciones, algunos de sus elementos son representados como predicciones. Esto es, se predice que pueden estar asociados a procesos de la homeostasis de la presión sanguínea (hipertensión, normotensión y/o hipotensión) a pesar de solo tener relación con el proceso de inflamación, aunque *involucran interacciones*

*fuertes con moléculas claves.* Estas predicciones son un resultado importante del estudio aquí reportado y se muestran con un asterisco (\*) en la tabla (Tabla 7.1).

Regulador	Interacción	Blanco	Referencia
Ang-(1-7)	-	ACE	(Tom et al., 2001)
NF $\kappa$ B	+	ACE	(Garcia et al., 2016; Xu et al., 2020)
AT1R	-	ACE2	(Deshotels et al., 2014)
AT2R	+ *	ACE2	(Zhu et al., 2015)
IFN $\alpha$	+ *	ACE2	(Ziegler et al., 2020)
AT1R	-	ANP	(Tan et al., 2018)
AT2R	+	ANP	(Tan et al., 2018)
MasR	+	ANP	(Shah et al., 2010)
NEP	-	ANP	(Margulies et al., 1995; McDowell & Nicholls, 2000)
AngII	+	AT1R	(Bosnyak et al., 2011; Crowley et al., 2011)
Ang-(1-9)	+	AT2R	(Flores-Muñoz et al., 2011)
AngII	+ *	AT2R	(Bosnyak et al., 2011)
ANP	-	Aldosterona	(Anderson et al., 1986)
AT1R	+	Aldosterona	(Miura et al., 2015; Xue et al., 2011)
ACE	+	Ang-(1-7)	(Rice et al., 2004)
ACE2	+	Ang-(1-7)	(Rice et al., 2004)
Ang-(1-9)	+	Ang-(1-7)	(Rice et al., 2004)
AngI	+	Ang-(1-7)	(Rice et al., 2004)
AngII	+	Ang-(1-7)	(Rice et al., 2004)
NEP	+	Ang-(1-7)	(Domenig et al., 2016; Rice et al., 2004)
ACE2	+	Ang-(1-9)	(Rice et al., 2004)
AngI	+	Ang-(1-9)	(Rice et al., 2004)
Renina	+ *	AngI	(Yan et al., 2019)
ACE	+	AngII	(Esther et al., 1997)
AngI	+	AngII	(Esther et al., 1997)
NEP	-	AngII	(Richards et al., 1992)

Regulador	Interacción	Blanco	Referencia
IL-1 $\beta$	+ *	BDKRB1	(Phagoo et al., 2000; Y. Zhang et al., 2007)
NF $\kappa$ B	+	BDKRB1	(Ni et al., 1998)
TNF $\alpha$	+ *	BDKRB1	(Ni et al., 1998; Y. Zhang et al., 2007)
DABK	+	BDKRB1	(Ni et al., 2003)
BK	+	BDKRB2	(Paquet et al., 1999; Sabatini et al., 2013)
ACE	-	BK	(Oshima et al., 1974; Tamaoki et al., 1989)
KLKB1	+	BK	(Kamitani et al., 1985; Kerbiriou & Griffin, 1979)
CPN1	+	CPN1	(Skidgel & Erdös, 2007)
ACE2	-	DABK	(Donoghue et al., 2000; Sodhi et al., 2018)
BK	+	DABK	(Marceau et al., 1981)
CPN1	+	DABK	(Palmieri et al., 1986)
IL-10	- *	IFN $\alpha$	(Ito et al., 1999)
AT1R	+	IFN $\gamma$	(Guzik et al., 2007)
IL-1 $\beta$	+ *	IFN $\gamma$	(D'andrea et al., 1993)
IL-10	- *	IFN $\gamma$	(D'andrea et al., 1993; Ito et al., 1999)
IL-12	+ *	IFN $\gamma$	(Alzona et al., 1995; D'andrea et al., 1993)
AT2R	+	IL-10	(Dhande et al., 2013; Dhande et al., 2015)
IFN $\gamma$	- *	IL-10	(Chomarar et al., 1993; X. Hu et al., 2006)
TNF $\alpha$	+ *	IL-10	(Elbim et al., 2001)
BDKRB2	+ *	IL-12	(Aliberti et al., 2003)
AngII	+	IL-12	(Ye et al., 2019)
IL-10	- *	IL-12	(Aliberti et al., 2003)
AT1R	+	IL-1 $\beta$	(Guo et al., 2011)
NF $\kappa$ B	+ *	IL-1 $\beta$	(Guo et al., 2011; Hiscott et al., 1993)
AT1R	+	IL-6	(Funakoshi et al., 1999; Guo et al., 2011)
MasR	- *	IL-6	(Souza & Costa-Neto, 2012)
PRCP	+	KLKB1	(Shariat-Madar et al., 2002, 2004)
Ang-(1-7)	+	MasR	(Santos, e Silva et al., 2003)

Regulador	Interacción	Blanco	Referencia
IFN $\gamma$	-	NEP	(Jiang et al., 2004; van der Velden et al., 1998)
IL-1 $\beta$	+ *	NEP	(Imokawa, 2016; van der Velden et al., 1998)
AT1R	+	NF $\kappa$ B	(Jeong et al., 2019; Maneesai et al., 2017)
BDKRB1	+	NF $\kappa$ B	(Schanstra et al., 1998; Sriramula & Lazartigues, 2017)
IL-10	-	NF $\kappa$ B	(Driessler et al., 2004; Qiu et al., 2022)
IL-1 $\beta$	+ *	NF $\kappa$ B	(Pugazhenthii et al., 2013; Scholz et al., 2013)
IL-6	+	NF $\kappa$ B	(L. Wang et al., 2003)
TNF $\alpha$	+ *	NF $\kappa$ B	(Moe et al., 2014; Schütze et al., 1995)
BDKRB1	+	PGE2	(Ljunggren et al., 1991; Marin-Castaño et al., 2002; Siragy et al., 1997)
AT2R	+ *	PRCP	(Zhu et al., 2010)
Renina	+	Renina	(Pratt et al., 1988; Zhu et al., 2010)
IL-10	-	TNF $\alpha$	(Poole et al., 1995)
AT1R	+	TNF $\alpha$	(Guzik et al., 2007)

Tabla 7.1: Interacciones de la red, (\*) predicciones.

### 7.2.1. Moléculas constitutivas

Dentro de estas interacciones se pudieron encontrar dos moléculas que son consideradas constitutivas, es decir, siempre se expresan de una forma no regulada (no presentan reguladores), y dentro de la red son considerados como entradas (*inputs* en la jerga del campo de investigación en el que se inscribe este estudio) del sistema. Estas dos moléculas son:

**Renina:** Se ha demostrado que se expresa en el riñón humano como prorenina (el precursor de renina) la cual, es rápidamente secretada por una vía constitutiva o es lentamente convertida por un proceso intracelular a renina madura (Pratt et al., 1988), además, se demostró que el proceso de conversión de prorenina a renina madura ocurre en un solo paso (Pratt et al., 1988).

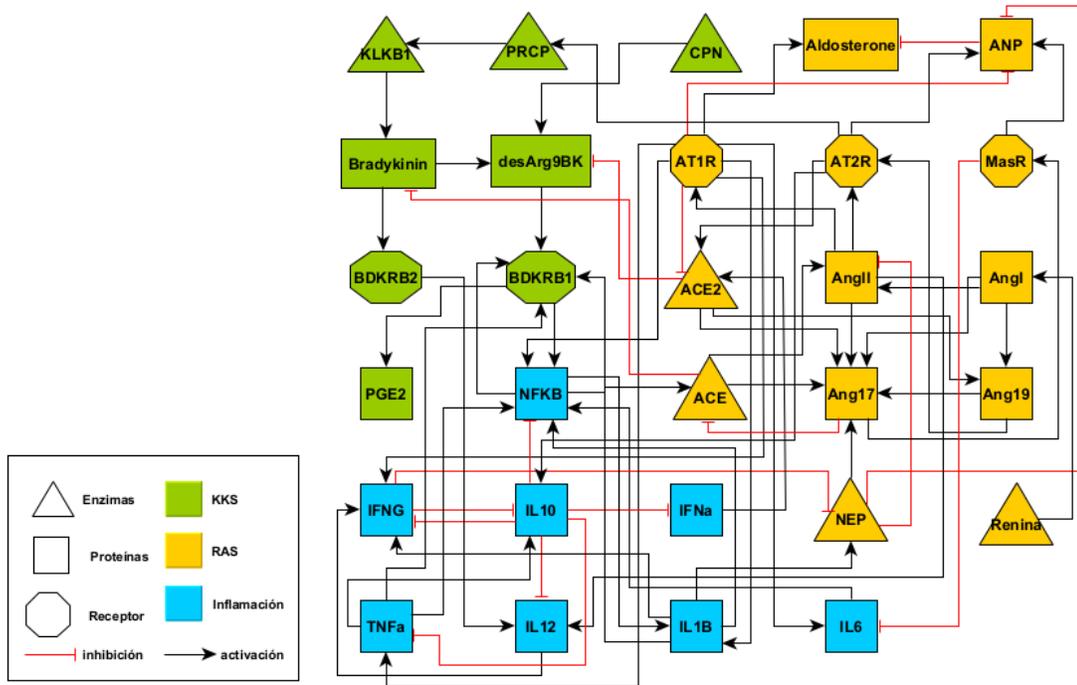


Figura 7.1: **Red de sistemas RAS, KKS e inflamación.** Se presentan las interacciones entre los tres sistemas, las flechas en color negro indican activación, las rojas inhibición.

**CPN o CPN1:** De igual forma la carboxipeptidasa, fue considerada constitutiva, debido a su expresión y a su funcionamiento como enzima dentro del sistema KKS, se ha demostrado su alta concentración en sangre, existen reportes de que la carencia de esta enzima en personas es casi imposible, o bien hay contados casos donde las personas puedan presentar niveles bajos de CPN en sangre (Skidgel & Erdös, 2007).

Con base en estas interacciones se obtuvo la red que se muestra en la Fig. 7.1, donde se representa el conjunto de moléculas (nodos) de los tres sistemas RAS, KKS e inflamación y sus interacciones, las cuales se reportan a continuación.

### 7.3. Funciones lógicas

De acuerdo con los datos obtenidos en literatura acerca de la relación de cada molécula se identificaron las funciones lógicas que regulan el estado de actividad de cada uno de los 29 nodos (Tabla 7.2). En esto se incluye a los nodos constitutivos a los cuales se les consideró como autorregulaciones dentro del sistema. En el caso de las reacciones enzimáticas, donde

los péptidos son generados a partir de una enzima y otro péptido, la regla lógica se expresó con el Booleano AND (&). Por ejemplo: en el caso de Ang-(1-9) que se genera a partir de la reacción enzimática de ACE2 con Ang I, la función lógica se establece como:

$$\text{Ang-(1-9)} \rightarrow \text{Ang I \& ACE2,}$$

ver Tabla 7.2.

Para la representación de las funciones lógicas reportadas se utilizaron los conectores Booleanos de AND (&), OR (|) y NOT (!). Cabe mencionar que dichos símbolos son reconocidos directamente por la librería *Boolnet* para el lenguaje de programación R.

<b>Nodo</b>	<b>Función lógica</b>
ACE	NF $\kappa$ B & !Ang17
ACE2	(IFN $\alpha$ & !AT1R)   (AT2R & !AT1R)
Aldosterona	AT1R & !ANP
Ang17	(Ang19 & ACE)   (ACE2 & AngII)   (NEP & AngI)
Ang19	AngI & ACE2
AngI	Renina
AngII	AngI & ACE & !NEP
ANP	(!NEP & !AT1R & AT2R)   (!NEP & !AT1R & MasR)   (!NEP & AT2R & MasR)   (!AT1R & AT2R & MasR)
AT1R	AngII
AT2R	Ang19   AngII
BDKRB1	(IL-1 $\beta$ & TNF $\alpha$ & NF $\kappa$ B)   DABK
BDKRB2	BK
BK	KLKB1 & !ACE
CPN	CPN
DABK	BK & CPN & !ACE2
IFN $\alpha$	!IL10
IFN $\gamma$	(IL12 & IL-1 $\beta$ )   (AT1R & !IL10)

Nodo	Función lógica
IL10	$(TNF\alpha \ \& \ !IFN\gamma) \mid (AT2R \ \& \ !IFN\gamma)$
IL12	$(BDKRB2 \ \& \ !IL10) \mid AngII$
IL-1 $\beta$	$AT1R \ \& \ NF\kappa B$
IL6	$AT1R \ \& \ !MasR$
KLKB1	PRCP
MasR	Ang17
NEP	$IL-1\beta \ \& \ !IFN\gamma$
NF $\kappa$ B	$(IL6 \ \& \ !IL10) \mid (BDKRB1 \ \& \ !IL10) \mid (IL-1\beta \ \& \ !IL10) \mid (TNF\alpha \ \& \ !IL10) \mid (AT1R \ \& \ !IL10)$
PGE2	BDKRB1
PRCP	AT2R
Renina	Renina
TNF $\alpha$	$!IL10 \ \& \ AT1R$

Tabla 7.2: Funciones lógicas.

## 7.4. Atractores

De acuerdo a la literatura el proceso de **hipertensión** es favorecido por la expresión de moléculas claves tales como; AT1R y ACE del sistema RAS, ya que están altamente caracterizadas en esta patología (Van Haaster et al., 2018). Además, el receptor B1R del sistema KKS está presente en procesos inflamatorios y por tanto en hipertensión, asimismo, en el sistema de inflamación la principal citocina inflamatoria caracterizada en este proceso fue IFN $\gamma$  (Benson et al., 2022); moléculas del sistema KKS presentaron una mínima participación. Por el contrario, en el proceso de **hipotensión** se especificó la ausencia de AT1R, y la expresión de ACE y AT2R, Ang II y Ang 1-9. También se contempló la expresión de B2R y de la citocina anti-inflamatoria IL-10. Con este patrón de expresión se seleccionaron las moléculas claves, para los fenotipos de hipertensión y normotensión/hipotensión, generando así, etiquetas que pudieran identificar aquellos atractores que tuvieran estas características después de

las simulaciones realizadas (Tabla 7.3).

Fenotipo	Etiqueta
Hipertensión	(ACE & AT1R)   (ACE & AT1R & AngII & IFNG & BDKRB1)
Hipotensión/ normotensión	((ACE2 & AT2R & IL10) & ( AngII   Ang19) & ! AT1R)

Tabla 7.3: Etiquetas de atractores

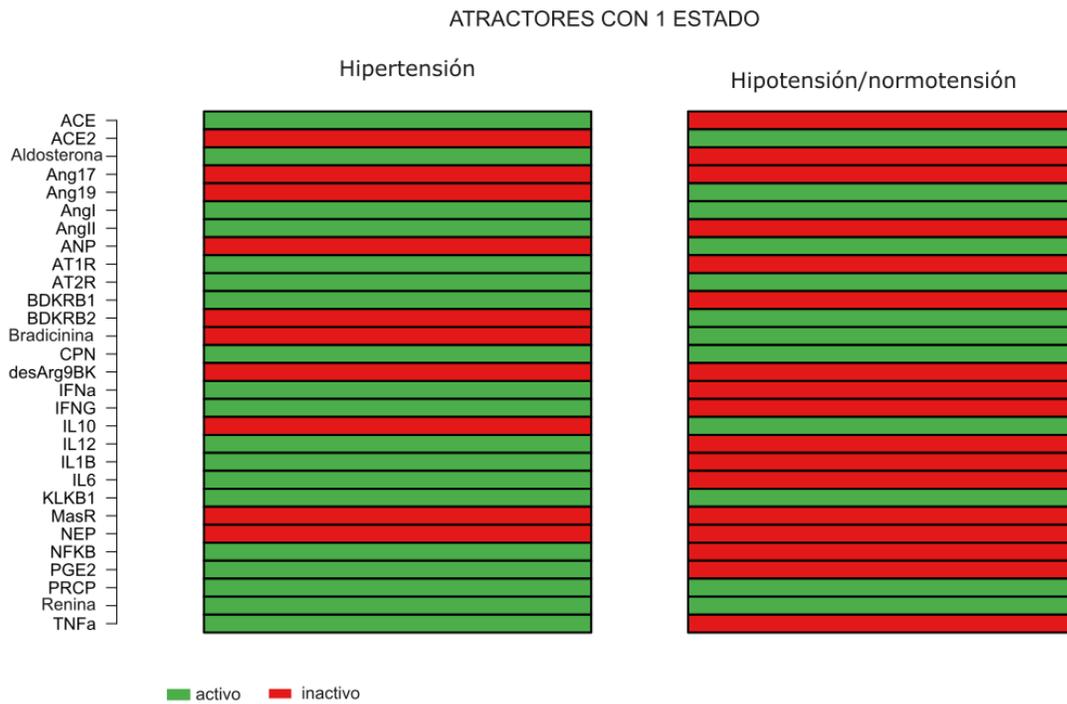


Figura 7.2: **Red de sistemas RAS, KKS e inflamación.** La figura muestra los atractores dinámicos que corresponden a los fenotipos de hipertensión y de hipotensión/normotensión.

La red se analizó con la librería de *Boolnet* en R, considerando actualización asíncrona, obteniéndose dos atractores de punto fijo (Fig. 7.2). Estos atractores fueron etiquetados (Tabla 7.3) y caracterizados con los fenotipos de hipertensión e hipotensión/normotensión.

En el atractor correspondiente a **Hipertensión** se observó la presencia del factor de transcripción  $\text{NF}\kappa\text{B}$  junto con citocinas inflamatorias como  $\text{IFN}\alpha$ , IL-12, IL-1 $\beta$ , IL-6 y  $\text{TNF}\alpha$ , además, de la expresión de Aldosterona y prostaglandina (PGE), y por último, la inactivación

de la citocina anti-inflamatoria IL-10.

Por otro lado, en el atractor de **Hipotensión** se observó la inhibición de las citocinas pro-inflamatorias y la expresión activa de IL-10 (al contrario del atractor de hipertensión) junto con la expresión del eje ACE2-Ang-(1-9)-AT2R, además, de la activación del receptor B2R del sistema KKS. Por otro lado, aunque el eje de MasR-Ang-(1-7) es de relevancia en presiones bajas, este se mantuvo inactivo. Al mismo tiempo, moléculas como NEP y DABK también se mantuvieron inactivas para ambos atractores. Al contrario, las moléculas tales como; KLKB1, Ang I, AT2R, PRCP (prolilcarboxipeptidasa) y las moléculas constitutivas (Renina y CPN) estuvieron activadas en ambos atractores.

## 7.5. Mutantes

Existen diversos factores de riesgo asociados al desarrollo de hipertensión, por ejemplo: las predisposiciones genéticas, la edad, el sobrepeso, el sedentarismo y el estrés. Además de una extensa evidencia donde la dieta tiene efectos significativos en la presión sanguínea (Rust & Ekmekcioglu, 2017). Estos factores también pueden generar alteraciones moleculares que se reflejan en un cambio de comportamiento de los componentes del sistema, lo cual altera el equilibrio en la regulación de la presión sanguínea.

Como ejemplo, se ha demostrado que la hipertensión puede ser inducida por una dieta con un prolongado consumo de sal que se asocia a un daño renal y a cambios significativos en la expresión de citocinas (Drenjančević-Perić et al., 2011). Aunque estos y otros procesos involucrados con el aumento de presión han sido ampliamente estudiados, el comportamiento general de estos factores con la regulación de la presión, no son aún del todo claros.

Dentro de los mecanismos asociados a la hipertensión dependiente del consumo excesivo de sal se encuentra, la expansión del volumen, la modificación de funciones renales y desordenes en el balance de sodio, que están relacionados con cambios en los componentes de RAS, sumado a la estimulación del sistema nervioso e inclusive en procesos inflamatorios (Drenjančević-Perić et al., 2011; Rust & Ekmekcioglu, 2017). Se ha observado que el

incremento de sal en la dieta aumenta la cantidad de **AT1R** (Bayorh et al., 2005), **AngII** y **aldosterona** en tejidos del riñón y del corazón, las cuales tienen una gran repercusión en el incremento de la presión sanguínea (Bayorh et al., 2005). Además, de estas moléculas, se ha encontrado que también hay un incremento en citocinas pro-inflamatorias como son **IL-1 $\beta$**  e **IL-6** (Blasi et al., 2003).

Por lo anterior, para obtener más información sobre el comportamiento dinámico de la red booleana, se simuló mutaciones de ganancia y pérdida de función y se evaluó el comportamiento de los atractores resultantes comparándolos con los obtenidos para el tipo silvestre (o llamado en inglés *wild-type*). Simultáneamente, se contrastaron los resultados con las evidencias experimentales reportadas.

### 7.5.1. Evidencia experimental.

Para cada uno de los nodos se recabaron las evidencias experimentales reportadas de sus mutaciones de ganancia y pérdida de función en procesos de hipertensión y/o hipotensión/normotensión (Tabla 7.5). Con respecto a mutaciones de pérdida de función de las moléculas; Ang-(1-9) y Ang I, después de una búsqueda exhaustiva no se encontró información de evidencias experimentales, por lo que, fueron consideradas como predicciones para el modelo.

Tabla 7.4: Evidencia experimental

Nodo	+/-	Descripción en literatura
ACE	+	Una transfección local de ACE no resulta en efectos sistémicos como aumento en la presión sanguínea (Morishita et al., 1994)
	-	Ratón mutante de ACE posee una presión sistólica significativamente baja comparados con ratones normales (Esther et al., 1997). Al inhibir un dominio de ACE se presentó la reducción de presión sanguínea luego de dos semanas de tratamiento (Alves-Lopes et al., 2021)

Nodo	+/-	Descripción en literatura
ACE2	<ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="444 260 467 289">+</li> <li data-bbox="444 491 467 520">-</li> </ul>	<p data-bbox="516 260 1455 470">ACE2 pudo atenuar significativamente la hipertensión pulmonar (H. Hu et al., 2020). Una sobreexpresión de ACE2 en el núcleo paraventricular redujo significativamente la hipertensión mediada por Ang II (Sriramula et al., 2011)</p> <p data-bbox="516 491 1455 697">En ratones pre-tratados con rACE2 murino que recibieron un inhibidor se observó que la presión sanguínea durante una infusión de Ang II fue más alta que en ratones que solo recibieron rACE2 (Giudicessi &amp; Ackerman, 2013)</p>
ANP	<ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="444 722 467 751">+</li> <li data-bbox="444 835 467 865">-</li> </ul>	<p data-bbox="516 722 1455 814">Una elevación crónica en la concentración de ANP induce una respuesta hipotensiva (Steinhelper et al., 1990).</p> <p data-bbox="516 835 1455 928">Ratones mutantes de ANP desarrollaron hipertensión crónica en comparación con los ratones normotensivos silvestres (Melo et al., 1999).</p>
AT1R	<ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="444 953 467 982">+</li> <li data-bbox="444 1066 467 1096">-</li> </ul>	<p data-bbox="516 953 1455 1045">La inhibición de NO induce la sobreexpresión de AT1R en el riñón, lo cual contribuye a la hipertensión y el daño renal (Rincón et al., 2015).</p> <p data-bbox="516 1066 1455 1272">Los mutantes de delección de AT1R tenían fenotipos distintivos que se comparten con los mutantes de delección de angiotensinógeno, estos son disminución de la presión sanguínea, incremento en la producción de renina e hipertrofia (Matsusaka et al., 1996).</p>
AT2R	<ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="444 1299 467 1329">+</li> <li data-bbox="444 1467 467 1497">-</li> </ul>	<p data-bbox="516 1299 1455 1442">La activación crónica de AT2R renal previene la retención de sodio y disminuye la presión sanguínea en modelos experimentales de hipertensión mediada por Ang II (Sumners et al., 2015).</p> <p data-bbox="516 1467 1455 1625">En ratones con una delección del gen de AT2R presentaron un aumento significativo de la presión sanguínea en respuesta a una infusión de Ang II (Siragy et al., 1999).</p>
Aldosterona	<ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="444 1646 467 1675">+</li> </ul>	<p data-bbox="516 1646 1455 1738">Una elevación de aldosterona plasmática presentó un ligero aumento de la presión sanguínea (Schewe et al., 2019).</p>

Nodo	+/-	Descripción en literatura
	-	Una infusión de FAD286, inhibidor de la sintasa de aldosterona presentó una ligera reducción en la presión sanguínea después de siete semanas en células adrenocorticales (Fiebeler et al., 2005). Una reducción de aldosterona dependiente de dosis reduce la presión sanguínea y previene el daño de órganos en modelos de ratón (Hargovan & Ferro, 2014)
Ang-(1-7)	+  -	Como resultado del incremento de ACE2, la expresión de Ang-(1-7) aumenta al doble en plasma comparada con los controles, la presión sanguínea basal disminuyó significativamente (Rentzsch et al., 2008).  La interrupción del eje ACE2-Ang-(1-7)-Mas bajo condiciones normales de la actividad de RAS no resulta en un incremento de la presión sanguínea (Rakušan et al., 2010).
Ang-(1-9)	+  -	Un incremento en los niveles de Ang-(1-9) está asociado a la disminución en la hipertrofia ventricular izquierda e incluso con la reducción de la presión sanguínea (Ocaranza et al., 2010). Un tratamiento de Ang-(1-9) presentó una significativa disminución de la presión sistólica y diastólica dependiente de dosis solo cuando las dosis de Ang-(1-9) son mayores a 600 ng/kg/min (Norambuena-Soto et al., 2020)  No encontrado.
AngI	+  -	La infusión de AngI en ratones WT resultó en un rápido incremento de la presión sanguínea que fue significativo después de una semana de infusión (Gonzalez-Villalobos et al., 2011)  No encontrado
AngII	+  -	La infusión progresiva de AngII incrementó la presión sanguínea progresivamente (Bao et al., 2007)  La inhibición de la vía de señalización p38 disminuye la hipertensión dependiente de AngII y previene el daño de órganos inducido por AngII (Bao et al., 2007).

Nodo	+/-	Descripción en literatura
BDKRB1	+  -	<p>Usando un anticuerpo específico de BDKRB1 genera una alta regulación en la expresión del receptor en el hipotálamo de ratones hipertensivos (Sriramula &amp; Lazartigues, 2017). La sobreexpresión de B1R no genera un cambio en la presión sanguínea (Kakoki &amp; Smithies, 2009).</p> <p>La mutante de B1RKO evitó el incremento de la presión sanguínea en ratones con hipertensión inducida por sal (Sriramula &amp; Lazartigues, 2017). La ausencia de B2R o B1R no presenta un cambio en la presión sanguínea (Kakoki &amp; Smithies, 2009)</p>
BDKRB2	+  -	<p>En ratones transgénicos que presentaban una sobreexpresión de BDKRB2 poseían un fenotipo hipotensivo (D.-z. Wang et al., 1997).</p> <p>El análisis en un perfil de presión desde los 6 hasta los 12 meses de edad revelaron un ligero aumento de la presión sanguínea en ratones B2R-KO comparados con los ratones silvestres (Maestri et al., 2003). Estudios recientes que utilizan ratones con BDKRB2-KO presentan una presión sistólica basal que no difiere con los ratones silvestres (Fu et al., 2004). La ausencia de B2R o B1R no presenta un cambio en la presión sanguínea (Kakoki &amp; Smithies, 2009).</p>
BK	+  -	<p>Los niveles de bradicinina en plasma incrementaron significativamente en ratones con hipertensión tratados con DOCA (Sriramula &amp; Lazartigues, 2017).</p> <p>La presión sanguínea basal fue la misma en ratas con deficiencia de cininas y con niveles normales de cininas (Rhaleb et al., 2001). El antagonista de BK (B4146) no causaba cambios en la presión sanguínea normal (Benetos et al., 1986).</p>
IFN $\alpha$	+	<p>Se considera a IFN como un factor de riesgo en hipertensión arterial en pulmones inducida por fármacos después de casos reportados de pacientes tratados con IFN<math>\alpha</math> (Sangal et al., 2014). La terapia con IFN puede ocasionar hipertensión arterial pulmonar (Savale et al., 2014).</p>

Nodo	+/-	Descripción en literatura
	-	En ratones mutantes de IFNAR1 <sup>-/-</sup> fueron protegidos de los efectos de hipoxia con una significativa reducción en la presión sistólica (George et al., 2014)
IFN $\gamma$	+	La infusión de AngII incrementa IFN $\gamma$ produciendo células CD8 <sup>+</sup> T, por lo tanto el efecto de hipertensión es mediado por un aumento de IFN $\gamma$ (Saleh et al., 2015). La sobreexpresión de ratones con IFN $\gamma$ presentaron una elevación de la presión sanguínea (Sun et al., 2017).
	-	Durante la infusión de AngII en una mutante de IFN $\gamma$ <sup>-/-</sup> se observó que contribuye a la disminución de la presión sanguínea (Kamat et al., 2015).
IL-10	+	Una sobreexpresión de IL-10 inyectada en ratas disminuyó la hipertensión inducida por AngII significativamente (Shi et al., 2010).
	-	La media de la presión arterial fue significativamente alta en ratones con deficiencia de IL-10 comparada con ratones silvestres (Sikka et al., 2013).
IL-12	+	Ratones con un tratamiento de IL-12 recombinante tuvieron una reducción significativa de la presión sistólica (Ye et al., 2019).
	-	IL-12p35 KO promueve la diferenciación de macrófagos, agrava la disfunción vascular y eleva la presión sanguínea en ratones tratados con AngII (Ye et al., 2019).
IL-1 $\beta$	+	Microinyección de IL-1 $\beta$ en el núcleo paraventricular del hipotálamo de las ratas resulta en un incremento de la presión sanguínea dependiente de dosis (Lu et al., 2009).
	-	IL-1Ra que reduce la expresión de mRNA de IL-1 $\beta$ en el pulmón también reduce la media de la presión arterial pulmonar (Chada et al., 2008).
IL-6	+	En condiciones normotóxicas con ratones que sobreexpresan IL-6 tienen una elevada presión sistólica ventricular comparado con ratones silvestres (Vazquez-Oliva et al., 2005).
	-	Con irbesartán que disminuye los niveles de IL-6 en paralelo disminuye la presión sanguínea en un corto periodo de tiempo (Steiner et al., 2009).

Nodo	+/-	Descripción en literatura
KLKB1	<p data-bbox="444 260 467 289">+</p> <p data-bbox="444 550 467 579">-</p>	<p data-bbox="516 260 1455 529">El aumento de calicreína en suero en ratas con hipertensión espontánea presentaron una media menor en la presión sistólica y diastólica a comparación de los controles (Yang et al., 2017). La expresión de KLKB1 no difiere significativamente entre la presión sanguínea alta y la presión sanguínea baja en ratones (Biswas et al., 2016).</p> <p data-bbox="516 550 1455 634">La presión sistólica sanguínea no fue modificada entre TK+/+ y TK -/- (Meneton et al., 2001).</p>
MasR	<p data-bbox="444 663 467 693">+</p> <p data-bbox="444 785 467 814">-</p>	<p data-bbox="516 663 1455 747">Ratones hipertensivos tuvieron una significativa disminución de la presión mediada por el receptor MasR (Kangussu et al., 2015)</p> <p data-bbox="516 785 1455 1033">Ratones con <i>knockout</i> de MasR presentaron una elevada presión sanguínea con un tipo genético FVB/N mientras que los de tipo genético C57BI/6 eran normotensivos (Rabelo et al., 2008). La administración de un bloqueador de receptor MasR evitó los efectos benéficos de Ang(1-7) (Shenoy et al., 2010).</p>
NEP	<p data-bbox="444 1066 467 1096">+</p> <p data-bbox="444 1188 467 1218">-</p>	<p data-bbox="516 1066 1455 1150">Ratones que sobreexpresan NEP contra ratones silvestres presentaban un aumento en la presión sanguínea (Nakagawa et al., 2021).</p> <p data-bbox="516 1188 1455 1327">Después de 5 semanas de hipoxia ratones NEP-/- tuvieron un incremento de la presión sistólica del ventrículo derecho comparado con ratones NEP+/+ (Dempsey et al., 2009)</p>
NF $\kappa$ B	<p data-bbox="444 1356 467 1386">+</p> <p data-bbox="444 1524 467 1554">-</p>	<p data-bbox="516 1356 1455 1495">Ratones expuestos a NaF inducen una mayor expresión de NF<math>\kappa</math>B en el riñón y el corazón, además de presentar un incremento significativo en los valores de la presión sanguínea sistólica (Oyagbemi et al., 2017)</p> <p data-bbox="516 1524 1455 1663">Con el represor de NF<math>\kappa</math>B (<math>I\kappa\beta\alpha\delta</math>) y una aplicación crónica de AngII la media de la presión sanguínea no tuvo diferencia con los demás grupos (Polichnowski et al., 2011).</p>
PGE2	<p data-bbox="444 1701 467 1730">+</p>	<p data-bbox="516 1701 1455 1780">Inyecciones de PGE2 aumentaron la presión sanguínea y el ritmo cardíaco (Hoffman et al., 1986).</p>

Nodo	+/-	Descripción en literatura
	-	Bloqueo con hexametonium que inhibe los efectos de PGE2 atenúa el incremento de la presión sanguínea (Hoffman et al., 1986).
PRCP	+ -	La sobreexpresión de PRCP no tuvo efectos significativos en el ritmo cardíaco y en la media de la presión sanguínea (Hao et al., 2020). Ratones PRCPgt/gt de 14 semanas de edad presentaron una elevación en la presión sistólica comparados con ratones silvestres (Maier et al., 2017).
TNF $\alpha$	+ -	Cuando a ratones con TNF $\alpha$ -/- se les aplicó una terapia de TNF $\alpha$ , la administración de AngII causó un incremento en la media de la presión arterial (Sriramula et al., 2008). La presión sanguínea y la función cardíaca fue significativamente atenuada en ratones TNF $\alpha$ -/-, la infusión de AngII aumentó significativamente la presión en ratones silvestres pero no en ratones TNF $\alpha$ -/- (Sriramula et al., 2008).
DABK	+ -	Conejos con des-Arg9-BK exógena tenían una respuesta hipotensiva (deBlois et al., 1989) El antagonista de DABK ([Leu8]-des-Arg9-BK) que bloquea a la DABK exógena no causa incrementos en la presión arterial a niveles basales (Nakhostine et al., 1993).

Tabla 7.5: (-) pérdida de función, (+) ganancia de función

### 7.5.2. Simulación de ganancia y pérdida de función.

El resumen de los resultados obtenidos para cada una de las simulaciones de las mutaciones tanto de pérdida y ganancia de función, excepto para los nodos constitutivos, se muestra en la Tabla 7.6. Los atractores resultantes fueron comparados en primera instancia con los atractores tipo silvestre y posteriormente con lo reportado en las evidencias experimentales.

Mutantes	Atractor
ACE <sup>+</sup> , AngII <sup>+</sup> , AT1R <sup>+</sup> , IFN $\gamma$ <sup>+</sup> , NF $\kappa$ B <sup>+</sup> ACE2 <sup>-</sup> , Ang-(1-9) <sup>-</sup> , AT2R <sup>-</sup> , IL-10 <sup>-</sup>	Pérdida de atractor de hipotensión
ACE2 <sup>+</sup> , Ang-(1-7) <sup>+</sup> , Ang-(1-9) <sup>+</sup> , IL-10 <sup>+</sup> , NEP <sup>+</sup> ACE <sup>-</sup> , AngII <sup>-</sup> , AT1R <sup>-</sup> , IFN $\gamma$ <sup>-</sup> , NF $\kappa$ B <sup>-</sup>	Pérdida de atractor de hipertensión
Aldosterona <sup>-/+</sup> , ANP <sup>-/+</sup> , BDKRB1 <sup>-/+</sup> , BDKRB2 <sup>-/+</sup> , IL-1 $\beta$ <sup>-/+</sup> , IL-6 <sup>-/+</sup> , TNF $\alpha$ <sup>-/+</sup> , AngI <sup>+</sup> , AT2R <sup>+</sup> , Ang-(1-7) <sup>-</sup> , NEP <sup>-</sup>	Mantienen ambos atractores

Tabla 7.6: Resumen de simulación de mutantes.

### Pérdida del atractor de hipotensión

Las moléculas que tuvieron **ganancia de función (+)** en la simulación de mutantes y que dieron lugar a la pérdida del atractor de hipotensión (es decir, que en tal caso sólo se recuperó el atractor de hipertensión), fueron principalmente moléculas pertenecientes a la vía clásica de RAS (ACE, Ang II y AT1R). Describiendo parte de la vía donde; **ACE** participa en la generación de Ang II a partir de Ang I, **AngII** es el ligando principal del receptor AT1R y por último **AT1R** tiene respuestas de vasoconstricción aumentando la presión sanguínea (Van Haaster et al., 2018). Por ende, se observa que la activación de cualquier molécula de la vía clásica puede generar un fenotipo de hipertensión. Tal y como se menciona en literatura científica (Van Haaster et al., 2018). De igual forma, la citocina inflamatoria **IFN $\gamma$**  y el factor de transcripción **NF $\kappa$ B** en ganancia de función sólo mantienen el fenotipo de hipertensión. En el caso de IFN $\gamma$  se ha demostrado su presencia en fenotipos de hipertensión (Benson et al., 2022) y NF $\kappa$ B, que actúa como un activador de citocinas pro-inflamatorias, se puede asociar su expresión con el fenotipo de presión alta (Granger, 2006; Luft, 2001).

En cuanto a las moléculas con **pérdida de función (-)** y que favorecieron la pérdida del atractor de hipotensión, se encuentran componentes de la vía no clásica de RAS (ACE2, Ang-(1-9) y AT2R) donde; **ACE2** participa en la formación de Ang-(1-9) a partir de Ang I y en la formación de Ang-(1-7) a partir de Ang II, evitando así la unión de Ang II con el receptor de AT1R, previniendo por tanto la vasoconstricción (Domenig et al., 2016; Rice et al., 2004). En el caso de **Ang-(1-9)**, este péptido funciona como ligando del receptor AT2R y además como precursor para la formación de Ang-(1-7) en conjunto con la enzima

ACE; por último el receptor **AT2R** que se activa gracias a la unión de sus ligandos; Ang II, Ang-(1-9) y Ang-(1-7) tiene una respuesta de vasodilatación y protección de tejidos, lo que deriva en una disminución de presión (Patel & Hussain, 2018). Además, se ha demostrado que un aumento de AT2R disminuye la señalización de AT1R (Masaki et al., 1998). por lo que, la ausencia de alguna de estas tres moléculas en el sistema genera una condición hipertensa. A su vez, la ausencia de **IL-10** también tiene efectos en la pérdida del atractor, esto podría deberse a que por la naturaleza anti-inflamatoria de esta molécula inhibe a las citocinas inflamatorias (Granger, 2006), por lo que, la ausencia de esta citocina produce un fenotipo de hipertensión.

### **Pérdida del atractor de hipertensión**

De manera contraria, la pérdida del atractor de hipertensión se vio reflejada cuando se realizó la ganancia de función de moléculas pertenecientes a la vía no clásica de RAS como son: ACE2, Ang-(1-7) y Ang-(1-9), como se mencionó anteriormente, **Ang-(1-9)** y **Ang-(1-7)** son ligandos de los receptores vasodilatadores del sistema RAS; AT2R y MasR respectivamente, por lo que, el aumento de estas moléculas induce una disminución de la presión sanguínea (Mascolo et al., 2020). También se encontró que la ganancia de función de **IL-10** evita la activación de citocinas pro-inflamatorias que producen un aumento de presión, esta respuesta se ve reflejada en la pérdida del atractor de hipertensión. Por último, la sobreexpresión de **NEP** también induce al fenotipo de hipotensión, esto podría deberse a su función enzimática sobre Ang I generando Ang-(1-7) (Domenig et al., 2016; Rice et al., 2004) activando así al eje NEP/Ang-(1-7)/MasR y por tanto obteniendo un atractor de hipotensión.

Con respecto a la pérdida de función de moléculas que conllevan a una pérdida del atractor de hipertensión, en el estudio aquí reportado estas pertenecen a la vía clásica de RAS (**ACE**, **AngII** y **AT1R**). Este resultado concuerda con el resultado anterior, donde estos nodos son indispensables en el aumento de la presión (Van Haaster et al., 2018). Además, también se encontró que la falta de **IFN $\alpha$**  y de **NF $\kappa$ B** sólo mantienen un fenotipo de presión baja. Esto concuerda con la inhibición de citocinas pro-inflamatorias y del proceso inflamatorio *per se*.

### Se mantienen ambos atractores

En el caso de la simulación de **Aldosterona** con ganancia y pérdida de función se mantienen ambos atractores (hipertensión e hipotensión), esto podría deberse a que esta proteína es un *output* del sistema, es decir, no regula a otros nodos dentro del mismo, entonces un cambio en su estado no altera el fenotipo. No obstante, en literatura se observa que la presencia de Aldosterona está asociada a un aumento en la presión (Cediel et al., 2004), pero también, se especifica que su efecto es directo, es decir, no depende de la vía de RAS para presentar el fenotipo de hipertensión (Cediel et al., 2004). En cambio, el péptido natriuretico atrial (**ANP**) tiene una respuesta opuesta a la de aldosterona ya que participa en la disminución de la presión (Zhou et al., 2009), no obstante, al igual que con aldosterona, ANP funciona como *output* por lo que, no ejerce un cambio dentro de los nodos, a excepción de su respuesta de inhibición hacia aldosterona.

Varios nodos pertenecientes al sistema KKS como son; PRCP, KLKB1, BK y el receptor B2R tampoco tuvieron repercusiones en la pérdida de atractores, ya que no afectaron los patrones de expresión en comparación con el *wild type*, (Tabla 7.6). Lo que sugiere una mínima participación en la eliminación del fenotipo de hipertensión donde están involucrados los ejes de ACE2-Ang-(1-9)-AT2R y NEP-Ang-(1-7)-MasR. Sin embargo, no excluye que tengan una mayor participación en el proceso de hipotensión, donde participa el eje ACE2-AngII-AT2R, entre otros. Además, las mutaciones del receptor B1 no alteraron el establecimiento de patrones de expresión, incluidas las citocinas, en comparación con el tipo salvaje. A pesar de estos resultados, en evidencia experimental se ha observado que la pérdida o ganancia de función de cada receptor (B1R y B2R) por separado no induce a ningún cambio en la presión sanguínea (A. Duka et al., 2006). No obstante, hay evidencia de que la reducción de BDKRB2 deriva en un ligero pero significativo aumento de presión (A. Duka et al., 2006), en dicho modelo no representa un cambio significativo dentro de los atractores obtenidos, que concuerda con lo reportado en literatura.

Dentro del sistema de inflamación también hay interleucinas que no reflejaron un cambio en los atractores obtenidos, estas fueron: IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ . De acuerdo a literatura, **IL-1 $\beta$**

tiene efectos hipertensivos actuando junto con AT1R (Lu et al., 2009), en el modelo se puede observar que regula a diferentes moléculas como NF $\kappa$ B o IFN $\gamma$  las cuales tienen un efecto directo en los atractores, sin embargo, estas moléculas tienen otros reguladores, por lo que, IL-1 $\beta$  no es indispensable para su activación y por tanto para cambiar de atractor. Por su parte, **IL-6** en sobreexpresión aumenta la presión sanguínea y proliferación, sin embargo, en el modelo se observa que solamente induce la expresión de NF $\kappa$ B pero sin ser su activador principal, razón por lo tanto, no se observa un cambio en los atractores.

Cabe resaltar que en literatura se ha observado que TNF $\alpha$  puede participar en la inducción de ambos fenotipos (hipertensión e hipotensión), se encontraron estudios donde TNF $\alpha$  puede oponerse a la vasoconstricción por Ang II y por tanto evita el aumento de presión, estas actividades de TNF $\alpha$  pueden deberse a su participación con otros factores como el estrés oxidativo que también participa en la hipertensión e hipotensión (Sriramula et al., 2008). Estas evidencias podrían asociarse con el comportamiento de los atractores a los que llega TNF $\alpha$ , siendo que tiene participación tanto en la disminución como en el aumento de la presión.

En el caso de **Ang I** se ha observado que un aumento de este péptido genera un aumento de presión (Gonzalez-Villalobos et al., 2011), por lo que, se esperaría un atractor de hipertensión. Por otro lado, se ha demostrado que un aumento en la expresión de **AT2R** disminuye ligeramente la presión sanguínea en condiciones normales y que principalmente evita los efectos de AT1R (vasoconstricción) en condiciones hipertensivas (Masaki et al., 1998), por lo que, la obtención de los dos atractores se asemeja a la literatura, ya que no se establece una condición previa al simular los atractores. De igual forma para **Ang-(1-7)** con pérdida de función se ha observado que su inhibición solo tiene un cambio en la presión arterial cuando hay algún factor extra que genera el aumento de presión (por ejemplo, aldosterona o una dieta de sal) siendo que una mutación en Ang-(1-7) puede agravar el aumento de presión solo en estas condiciones (Xue et al., 2013), por lo cual los dos atractores sí coinciden con literatura.

### **Pérdida de atractores**

En la mutante de pérdida de función de **Ang I** se perdieron ambos atractores, siendo este resultado de interés debido a que se esperaba la presencia de las moléculas del sistema KKS o de inflamación. Sin embargo esta mutación tampoco ha sido reportada en literatura para fenotipos de presión arterial o fenotipos de enfermedades inflamatorias. Por otro lado, con la mutante de pérdida de función de **Ang-(1-9)** tampoco se encontró información en literatura, sin embargo, en la simulación del modelo se obtuvo el atractor de hipertensión y se perdió el atractor de hipotensión. Este resultado de Ang 1-9 y el de Ang I con pérdida de función se consideraron predicciones del modelo y requerirían una posterior validación de manera experimental para observar tales fenotipos.

### **Ang II con ganancia de función (AngII<sup>+</sup>)**

Con la mutación de ganancia de función se pudo recuperar el atractor de hipertensión, sin embargo, se recuperó un segundo atractor que posee un patrón de expresión parecido al de hipertensión ya que está activado el receptor AT1R, el principal indicador de presión alta (Van Haaster et al., 2018); no obstante, se observa también la activación de B2R y BK que fue asociado a la ausencia de las citocinas pro-inflamatorias como  $IFN\gamma$ ,  $TNF\alpha$  e  $IL-1\beta$ . Este atractor podría considerarse como un estado intermedio de los fenotipos de hipertensión sin una presencia de inflamación, en el cual se tiene la presencia de la presión alta por el receptor AT1R pero también la respuesta anti-inflamatoria inducida por el sistema KKS (B2R y BK), y que puede observarse en la inhibición de las citocinas pro-inflamatorias, favoreciendo la presencia de IL-10 como citocina anti-inflamatoria, que asociado a la literatura se podría comparar con la compensación de los sistemas para prevenir el aumento de presión generado con la sobreexpresión de Ang II (A. Duka et al., 2006).

### **IL-1 $\beta$ con ganancia de función, activación de NEP**

La simulación de la mutación para la ganancia de función de la interleucina IL-1 $\beta$ , favoreció la expresión de NEP, también conocida como MME (metaloendopeptidasa de membrana), que había permanecido inactiva en ambos atractores en *wild type*. En consecuencia, resultó

en la activación de Ang-(1-7) y del receptor MasR, junto con Ang-(1-9) y AT2R que también permanecieron activos.

NEP está regulada positivamente por la interleucina IL-1 $\beta$  y negativamente regulada por IFN $\gamma$  (van der Velden et al., 1998). Por lo tanto, la activación de Ang-(1-7) se realizó mediante la activación de Ang I junto con NEP. Además, NEP es un regulador negativo de ANP o también conocido como ANF (péptido natriurético atrial), este último tiene efectos vasodilatadores y diuréticos (Margulies et al., 1995); después de las simulaciones, permanece activo incluso cuando NEP está presente; esto probablemente se ve favorecido por la señalización de dos reguladores activos de ANP, como son los receptores AT2R y MasR que aparecen en el atractor de hipotensión/normotensión (Shah et al., 2010; Tan et al., 2018). Este resultado requiere de una validación experimental.

### **Activación de B1R en hipertensión**

Simultáneamente, se observó la activación del receptor B1R en el atractor de hipertensión en el tipo silvestre, incluso sin la activación de desArg9BK, esta activación se atribuyó a la expresión de citocinas tales como IL-1 $\beta$  y TNF $\alpha$ , y al factor de transcripción NF $\kappa$ B (Phagoo et al., 2000). Después de evaluar las simulaciones de pérdida y ganancia de función de todos los nodos, DABK se activó cuando se realizó la ganancia de función de BK, dado que esta no estaba activa en el atractor de hipertensión en el tipo salvaje. En el atractor de hipotensión/normotensión del tipo salvaje, la inactivación de DABK se atribuyó principalmente, a la presencia de la enzima ACE2 que es una de las principales enzimas que la degradan. (De Maat et al., 2020).

Con respecto a simulaciones de ganancia y pérdida de función de los nodos, como PRCP, KLKB1, bradicinina y receptor B2, no afectaron los patrones de expresión en comparación con el tipo salvaje (Tabla 7.6). Lo que sugiere una mínima participación en este fenotipo donde está involucrado el eje de ACE2-Ang-(1-9)-AT2R y NEP-Ang-(1-7)-MasR. Sin embargo, no excluye que tengan una mayor participación en el proceso de hipotensión, donde participa el eje ACE2-AngII-AT2R, entre otros. Además, las mutaciones del receptor B1 no alteraron el establecimiento de patrones de expresión, incluidas las citocinas, en comparación con el tipo salvaje.

Las simulaciones de la pérdida de función de  $\text{IFN}\gamma$  muestran la pérdida del atractor de hipertensión (Sun et al., 2017) y, de manera similar, la ganancia de función del nodo IL-10 promueve la pérdida del atractor relacionado con la hipertensión (Shi et al., 2010) (ver Tabla 7.6).

### 7.5.3. De atractor de normotensión a hipertensión

Como se mencionó anteriormente, una de las principales causas que generan hipertensión es la dieta alta en sales (Drenjančević-Perić et al., 2011), que se ha demostrado produce diferentes efectos dentro de los sistemas de RAS e inflamación, estos efectos están asociados al cambio de concentración de las moléculas. La recopilación de moléculas que aumentan de expresión en una alta en sales se presenta en la tabla 7.7, en la cual se compara este cambio de expresión (sobrexpresión principalmente) con los atractores de las mutantes de sobreexpresión que se evaluaron en este modelo. Es decir, con las simulaciones de mutaciones de cada molécula se obtuvieron los atractores resultantes, para posteriormente comparar los resultados con el fenotipo de hipertensión al que llegan estas moléculas cuando hay una alta ingesta de sal. De estas simulaciones se esperaba la aparición del atractor de hipertensión y la pérdida del atractor de hipotensión. Sin embargo, para el caso de moléculas como: Aldosterona, IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$  se observó que ambos atractores se mantenían.

Molécula	Comportamiento	Atractor
AT1R	Aumento del receptor (Bayorh et al., 2005)	Hipertensión
AngII	Aumento de péptido (Bayorh et al., 2005)	Hipertensión
Aldosterona	Aumento de péptido (Bayorh et al., 2005)	Ambos atractores
IL-1 $\beta$	Aumento de citocina (Blasi et al., 2003)	Ambos atractores
IL-6	Aumento de citocina (Blasi et al., 2003)	Ambos atractores
NF $\kappa$ B	Aumento de citocina (Gu et al., 2006)	Hipertensión
TNF $\alpha$	Aumento de citocina (Gu et al., 2006)	Ambos atractores

Tabla 7.7: Moléculas con alteraciones en presencia del consumo excesivo de sal contrastadas y evaluadas en los atractores obtenidos del modelo después de las simulaciones de mutaciones

# 8

## Discusión

Existen varios estudios que proporcionan información relevante sobre la cinética del metabolismo en la formación de los péptidos de angiotensina que participan en la vía de Renina-angiotensina a través, de las enzimas ACE2, ACE y NEP. Indicando, que la formación de Ang-(1-7) se da principalmente por las siguientes interacciones:

- la incisión del péptido Ang II por enzima ACE2,
- la incisión de Ang-(1-9) por ACE y
- la incisión de Ang I por NEP (Domenig et al., 2016; Rice et al., 2004).

Por otro lado, estudios de mutaciones revelan que la ausencia de la enzima ACE2 (*KO*: o *Knock ACE2*), favorece el incremento de Ang-(1-7), relacionando su formación a través de la participación de NEP vía incisión de Ang I. Esta interacción también se sustenta cuando se realiza la inhibición de NEP por el fármaco sacubitrilo (LBQ657) que redujo los niveles de Ang-(1-7). Además, la inhibición de ACE2 produjo un incremento de Ang II (Domenig et al., 2016). Por lo anterior, los autores cuestionan que el eje de activación de Ang-(1-7) a través de Ang I por NEP puede ser alterado cuando se utilizan terapias que son enfocadas a la inhibición de NEP en comorbilidades como es la insuficiencia cardiaca, insuficiencia renal, entre otras morbilidades, por lo que, se requiere una mayor investigación sobre las enzimas que participan en la formación de Ang-(1-7).

NEP se ha caracterizado como una enzima generadora del péptido Ang-(1-7) del cual su principal receptor es MasR ejerciendo señalizaciones de vasodilatación por la liberación de óxido nítrico (NO), se ha observado que MasR también se ha involucrado en la activación de natriuréticos como es el péptido natriurético atrial (ANP), que tiene efectos benéficos en la homeostasis de la presión sanguínea, entre otras funciones (Margulies et al., 1995). Sin embargo, se ha encontrado que NEP también participa en la inhibición de ANP (Margulies et al., 1995; McDowell & Nicholls, 2000). Por lo anterior, la funcionalidad de NEP es controversial, dado su dualidad en la regulación de la homeostasis de la presión sanguínea.

En este modelo el comportamiento de NEP en ambos atractores del estado *wildtype* se observa como una inactivación. Sin embargo, en las mutaciones se observa que una activación de NEP está involucrada en el mantenimiento del fenotipo de hipotensión (Tabla 7.6), lo cual se relaciona con la generación de Ang-(1-7) y por tanto de una respuesta de vasodilatación. No obstante, al realizar la mutación de inhibición de NEP no se observó ningún cambio en los atractores contra el *wild type* lo cual se asocia con literatura donde se observa que la inhibición de NEP de forma experimental generalmente debe estar acompañada de una inhibición de ACE para poder mantener el atractor de hipotensión (Alves-Lopes et al., 2021). Dado que, se considera que la inhibición de NEP tiene un efecto casi imperceptible en el cambio de la presión arterial (Bevan et al., 1992).

Una de las moléculas principales que participan en la patología de hipertensión es la prostaglandina (PGE) que es un metabolito de ciclooxigenasa que regula la presión sanguínea (Swan & Breyer, 2011). Se ha observado que los efectos vasoactivos mediados por B1R se llevan a cabo a través de la expresión de PGE (I. Duka et al., 2003). Sin embargo, se ha observado que PGE tiene efectos tanto de vasodilatación como de vasoconstricción dependiendo de las condiciones que la rodean. Estos efectos son consecuencia de sus cuatro distintos receptores (L. Wang et al., 2022). Las respuestas de vasodilatación se llevan a cabo a través de los receptores EP2 (E-prostanoide 2) y EP4 (E-prostanoide 4), mientras que las respuestas de vasoconstricción se desencadenan por los receptores EP1 (E-prostanoide 1) y EP3 (E-prostanoide 3) (Swan & Breyer, 2011).

En este modelo, solamente se consideró la respuesta del receptor B1R en la expresión de PGE, sin embargo, no fueron incluidos los receptores para PGE. La respuesta de PGE depende de su receptor al que se una, genera señalizaciones que pueden favorecer a un fenotipo de hipertensión o hipotensión, y todo dependerá de las condiciones que lo rodean. Por ejemplo, se ha observado que la infusión sistémica de PGE ayuda a disminuir la presión arterial por medio de EP2, y al contrario, una infusión cerebro-ventricular de PGE aumenta la presión sanguínea por medio de la activación del receptor EP3 (Swan & Breyer, 2011).

También, se ha observado que la expresión de PGE también se puede dar a través del receptor B2R, solo cuando existe en conjunción con la expresión de la hormona desoxicorticosterona favoreciendo así, la activación de PGE (Madeddu et al., 1993). por lo que, PGE podría ser activada por ambos receptores de la vía KKS (B1R y B2R) bajo ciertas condiciones y a su vez, la respuesta de PGE en la regulación de la presión sanguínea va a depender del receptor al que se una.

En cuanto a los receptores de bradicinina, se ha observado que ambos tienen un comportamiento constitutivo. En el caso de B2R se expresa en condiciones normales en diferentes tejidos como: intestinales, cardiovasculares, el tracto respiratorio, neuronales, entre otros (Hall, 1997). Por otro lado, el receptor B1R tiene una expresión más baja que B2R en condiciones normales, pero tiene un mRNA constitutivo que es rápidamente inducido ante una respuesta inflamatoria o condiciones de estrés y al igual que B2R se expresa en la mayoría de los tipos celulares relevantes para la inflamación como células endoteliales o fibroblastos (Qadri & Bader, 2018). Sin embargo, se ha demostrado que la activación constitutiva de B1R se puede dar de forma espontánea y en respuesta a mutaciones del propio receptor, por lo que, puede generar una respuesta independientemente del ligando (Leeb-Lundberg et al., 2001).

Ahora bien, a diferencia de las moléculas que fueron señaladas como constitutivas (Renina y CPN), estos receptores no se consideraron constitutivos ya que necesitan de un ligando o un estímulo para poder activarse. En el caso de B2R es necesaria su unión con su ligando BK (y

sus derivados) para inducir su respuesta vasodilatadora en la regulación de la presión (Rex et al., 2022). Pero B1R actúa de manera diferente, ya que, este receptor puede reaccionar aún sin su ligando (DABK y sus derivados) pero con la activación de la vía de inflamación y su liberación de citocinas inflamatorias como  $IL1\beta$ ,  $TNF\alpha$  y  $NF\kappa B$  (Ni et al., 1998; Phagoo et al., 2000; Y. Zhang et al., 2007). por lo que, a pesar de ser considerados constitutivos en literatura, estos receptores fueron considerados con sus reguladores del sistema de inflamación para la caracterización de la presión sanguínea.

Profundizando en la búsqueda de evidencias experimentales de reguladores y del control transcripcional de ACE y NEP, se encontró una notable escasez. Para ACE, uno de los reguladores transcripcionales que favorece su expresión es el factor  $NF\kappa B$  (Garcia et al., 2016; Xu et al., 2020). La inhibición de ACE a través de Ang-(1-7) es limitada al dominio C-terminal, por lo que, un mayor efecto de inhibición de ACE, se observa cuando en conjunto con Ang-(1-7) se inhibe el dominio N-terminal a través de captopril (Tom et al., 2001).

Con respecto a NEP, este es regulado positivamente por interleucina  $IL-1\beta$  y regulado negativamente por  $IFN\gamma$  (van der Velden et al., 1998). Estas últimas interacciones, fueron consideradas como predicción para el modelo, dado que la regulación de NEP sólo se ha evaluado en procesos de inflamación para el epitelio bronquial en enfermedades como es el asma, pero no han sido caracterizadas en procesos de presión sanguínea.

Para la validación de estas interacciones, se pueden seguir los protocolos de experimentación actualmente definidos. A modo de ejemplo, se describe a continuación de manera breve una estrategia de metodología: el modelo *in vivo*, se realiza en ratones *wild type* C57BL/6J y consiste en la infusión de angiotensina II (Ang II) que conduce a la elevación de la presión sanguínea e inflamación. Una vez inducida la hipertensión en los ratones, se sacrifican y se realiza un análisis de citocinas y de la expresión de la metaloendopeptidasa NEP. Para ello, se aíslan células T  $CD4+$  o  $CD8+$  de una suspensión celular del bazo y/o ganglios linfáticos de los ratones tratados y no tratados con Ang II. En paralelo, se aíslan células de órganos como es el riñón, estas células son cultivadas con ciertas condiciones en el medio de cultivo. En el caso de los cultivos de células T  $CD4+$  o  $CD8+$  las citocinas liberadas pueden ser

detectadas por diversas tecnologías, por ejemplo, el sistema luminex. Pare el caso del cultivo de células de riñón, estos son estimuladas con IL-1B e IFN $\gamma$  o sin estas citocinas, evaluando la expresión de NEP en cada condición (Steiner et al., 2009; van der Velden et al., 1998).

La obtención de los dos atractores (hipertensión e hipotensión) parece representar el estado de regulación de la presión sanguínea, debido a que en ambos atractores se observó el comportamiento de las moléculas que son indicadoras de cada uno de los fenotipos. Para la obtención de la red se incorporaron interacciones como predicciones de ciertas moléculas principalmente pertenecientes al sistema inflamatorio como son: IFN $\alpha$ , IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-10, IL-12, IL-6 y NF $\kappa$ B. Esto debido a evidencia de la participación de este sistema en procesos de hipertensión (Agita & Alsagaff, 2017; Granger, 2006), estas interacciones dentro del sistema pudieron modelar principalmente el comportamiento de IFN $\gamma$  al representar que su activación está asociada a un fenotipo de hipertensión y viceversa, la inhibición de esta molécula caracteriza a un patrón de hipotensión, lo cual concuerda con literatura donde se observa a esta molécula como uno de los principales inductores de hipertensión (Savale et al., 2014). Este resultado también se refleja en el comportamiento de NF $\kappa$ B que de acuerdo a lo reportado en literatura, participa en procesos hipertensivos (Gu et al., 2006).

Estas evidencias pueden ser de relevancia a nivel experimental debido a que el modelo parece acercarse al proceso en la regulación de la presión, lo cual permite que se puedan comprobar estas interacciones predictivas en contextos de presión sanguínea e inclusive ayudando a la integración de fármacos para la inhibición o activación de ciertas moléculas que parecen estar muy asociadas al cambio de fenotipo de hipertensión e hipotensión.

# 9

## Conclusiones

Con el modelo Booleano que integró moléculas e interacciones de los sistemas Renina-Angiotensina (RAS), Calicreína-Cinina (KKS) e inflamación, se pudieron recuperar los fenotipos de hipertensión e hipotensión/normotensión, a través de los atractores resultantes. Además, con las simulaciones de ganancia y pérdida de función, se pudieron identificar moléculas claves que pueden llevar a la transición de un fenotipo a otro, principalmente en el sistema de RAS con moléculas como: ACE, Ang II y AT1R que con ganancia de función llevan al sistema a un atractor de hipertensión, y al contrario, ACE2, Ang-(1-9) y AT2R también con ganancia de función inducen al fenotipo de hipotensión. Inclusive en el sistema inflamatorio, citocinas como  $IFN\gamma$  o  $NF\kappa B$  derivan en un atractor de hipertensión.

Con los análisis de ganancia y pérdida de función se pudo observar que las moléculas pertenecientes al sistema de RAS tienen una mayor participación en el cambio del fenotipo del sistema a comparación de las moléculas de KKS e inflamación. También, en las simulaciones de pérdida de función de Ang-(1-9) y Ang I, se obtuvieron resultados que reflejaban fenotipos que no estaban reportados en literatura y por lo tanto se pueden considerar como predicciones del modelo.

Además, fueron integradas algunas interacciones entre citocinas como  $TNF\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , asociadas a procesos de inflamación en enfermedades como asma, autoinmunes, cardiovasculares, etc., y que hasta el momento no han sido descritas en procesos de presión sanguínea, las cuales fueron consideradas como predicciones del modelo y ayudaron a representar conexiones relevantes entre estos dos procesos inflamación-hipotensión/hipertensión. Con base en

literatura, se observó que NEP tiene una función controversial dentro de la regulación de la presión sanguínea debido a su participación tanto en el aumento, como en la disminución de la misma. Con las interacciones de NEP que fueron integradas al modelo, se logró observar que tiene una participación relevante en el atractor de hipotensión, dando como resultado la activación del eje NEP-Ang-(1-7)-MasR. Con respecto a la activación de ANP en el mismo atractor, a pesar de la presencia de uno de sus inhibidores (NEP), se planteó la hipótesis de que esto depende de la activación de dos reguladores positivos AT<sub>2</sub>R y MasR, este último resultado requiere ser validado experimentalmente.

Por otro lado, se pudo observar que durante la recopilación de la información, hacen falta profundizar en el estudio de reguladores para enzimas relevantes como son NEP o ACE, quienes juegan un papel muy importante en la regulación de la presión sanguínea.

Finalmente, este modelo contribuye con una aproximación al estudio de la regulación de la presión sanguínea donde se integran componentes de RAS, KKS e inflamación. Esta red brinda una visión panorámica de este proceso fisiológico, en la que se incluyen moléculas claves que pueden ser consideradas como una etapa inicial, para que posteriormente pueda usarse para la búsqueda de blancos de estudio para la terapia en hipertensión.

# 10

## Perspectivas

La integración de esta red para el estudio de la presión sanguínea ofrece una base para que se puedan integrar al modelo cualitativo situaciones de señales extracelulares. En particular en lo que concierne al estilo de vida del paciente, señales tales como las que corresponden al consumo excesivo de sal, la integración de hormonas, entre otros. Esto permitiría indagar el papel que tales señales poseen en la regulación de la presión, así como su contribución en la vías de señalización que llevan a la expresión de la enzima ACE2 (dado que esta la podemos encontrar como receptor y como enzima que participa en las vías de RAS y KKS).

Para concluir este reporte a continuación se resumen algunos puntos de mejora y propuestas:

- Considerar la activación constitutiva de B1R y B2R, e integrar aquellas moléculas que cooperan con el receptor B2 para la activación de PGE.
- Incluir señales externas como es el caso de hormonas, sal, entre otros que cooperan con las vías de señalización e inclusive integrar otros sistemas tales como; obesidad y estrés, que también se han relacionado con la regulación de la presión sanguínea.
- Realizar un análisis de estocasticidad en el que se evalúen las proporciones de los fenotipos (hipertensión e hipotensión/normotensión) principalmente en aquellas simulaciones de pérdida y ganancia de función donde se mantuvieron ambos fenotipos.
- Simular mutaciones múltiples simultáneas para evaluar el comportamiento del sistema ante estas perturbaciones.

- Validar aquellas predicciones de relevancia que fueron encontradas en el modelo: como el caso de ANP que puede ser expresado con AT2R y MasR aún con la presencia de NEP.

# Bibliografía

- Agita, A., & Alsagaff, M. T. (2017). Inflammation, immunity, and hypertension. *Acta Medica Indonesiana*, 49(2), 158.
- Albert, R. (2004). Boolean modeling of genetic regulatory networks. En *Complex networks* (pp. 459-481). Springer.
- Aliberti, J., Viola, J. P., Vieira-de-Abreu, A., Bozza, P. T., Sher, A., & Scharfstein, J. (2003). Cutting edge: bradykinin induces IL-12 production by dendritic cells: a danger signal that drives Th1 polarization. *The Journal of Immunology*, 170(11), 5349-5353.
- Álvarez-Buylla, M. E. R., Martínez-García, J. C., Dávila-Velderrain, J., Domínguez-Hüttinger, E., & Martínez-Sánchez, M. E. (2018). *Modeling Methods for Medical Systems Biology: Regulatory Dynamics Underlying the Emergence of Disease Processes* (Vol. 1069). Springer.
- Alves-Lopes, R., Montezano, A. C., Neves, K. B., Harvey, A., et al. (2021). Selective Inhibition of the C-Domain of ACE (Angiotensin-Converting Enzyme) Combined With Inhibition of NEP (Neprilysin): A Potential New Therapy for Hypertension. *Hypertension*, 78(3), 604-616.
- Alzona, M., Jäck, H.-M., Fisher, R. I., & Ellis, T. M. (1995). IL-12 activates IFN-gamma production through the preferential activation of CD30+ T cells. *The Journal of Immunology*, 154(1), 9-16.
- Anderson, J., Struthers, A., Payne, N., Slater, J., & Bloom, S. (1986). Atrial natriuretic peptide inhibits the aldosterone response to angiotensin II in man. *Clinical Science (London, England: 1979)*, 70(5), 507-512.

- Arciniega, J. A. (2020). *Acople de redes de regulación de la diferenciación y el ciclo celular : la raíz de Arabidopsis thaliana como modelo* (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias.
- Bao, W., Behm, D. J., Nerurkar, S. S., Ao, Z., Bentley, R., et al. (2007). Effects of p38 MAPK Inhibitor on angiotensin II-dependent hypertension, organ damage, and superoxide anion production. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 49(6), 362-368.
- Bayorh, M. A., Ganafa, A., Emmett, N., Socci, R., Eatman, D., & Fridie, I. (2005). Alterations in aldosterone and angiotensin II levels in salt-induced hypertension. *Clinical and experimental hypertension*, 27(4), 355-367.
- Beevers, G., Lip, G. Y., & O'Brien, E. (2001). The pathophysiology of hypertension. *Bmj*, 322(7291), 912-916.
- Bekassy, Z., Lopatko Fagerström, I., Bader, M., & Karpman, D. (2022). Crosstalk between the renin–angiotensin, complement and kallikrein–kinin systems in inflammation. *Nature Reviews Immunology*, 22(7), 411-428.
- Benetos, A., Gavras, I., & Gavras, H. (1986). Hypertensive effect of a bradykinin antagonist in normotensive rats. *Hypertension*, 8(11), 1089-1092.
- Benson, L. N., Liu, Y., Deck, K. S., Mora, C., & Mu, S. (2022). Interferon Gamma contributes to the immune mechanisms of hypertension. *Kidney360*.
- Bevan, E. G., Connell, J. M., Doyle, J., Carmichael, H. A., & Davies, D. L. (1992). Candoxatril, a neutral endopeptidase inhibitor: efficacy and tolerability in essential hypertension. *Journal of hypertension*, 10(7), 607-614.
- Biswas, N., Maihofer, A. X., Mir, S. A., Rao, F., et al. (2016). Polymorphisms at the F12 and KLKB1 loci have significant trait association with activation of the renin-angiotensin system. *BMC medical genetics*, 17(1), 1-11.
- Blasi, E. R., Rocha, R., Rudolph, A. E., Blomme, E. A., & Polly, M. L. (2003). Aldosterone/salt induces renal inflammation and fibrosis in hypertensive rats. *Kidney international*, 63(5), 1791-1800.
- Bornholdt, S. (2008). Boolean network models of cellular regulation: prospects and limitations. *Journal of the Royal Society Interface*, 5(suppl\_1), S85-S94.

- Bosnyak, S., Jones, E. S., Christopoulos, A., & Aguilar, M.-I. (2011). Relative affinity of angiotensin peptides and novel ligands at AT1 and AT2 receptors. *Clinical science*, *121*(7), 297-303.
- Botzer, A., Grossman, E., Moulton, J., & Unger, R. (2018). A system view and analysis of essential hypertension. *Journal of hypertension*, *36*(5), 1094.
- Burlando, B., Blanchini, F., & Giordano, G. (2019). Loop analysis of blood pressure/volume homeostasis. *PLoS Computational Biology*, *15*(9), e1007346.
- Campbell, D. J. (2001). The kallikrein-kinin system in humans. *Clinical and experimental pharmacology and physiology*, *28*(12), 1060-1065.
- Campos-Nonato, I., Hernández-Barrera, L., Oviedo-Solis, C., & Ramirez-Villalobos, D. (2021). Epidemiology of hypertension in Mexican adults: diagnosis, control and trends. *Ensanut 2020. salud pública de méxico*, *63*(6), 692-704.
- Cediel, E., De Las Heras, N., Sanz-Rosa, D., Cachofeiro, V., & Lahera, V. (2004). Aldosterona y función vascular en hipertensión. *Nefrología*, *24*, 5.
- Chada, M., Nögel, S., Schmidt, A.-M., Rückel, A., et al. (2008). Anakinra (IL-1R antagonist) lowers pulmonary artery pressure in a neonatal surfactant depleted piglet model. *Pediatric pulmonology*, *43*(9), 851-857.
- Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Li, Y., Wang, X., & Zhao, L. (2018). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, *9*(6), 7204.
- Chomarat, P., Risoan, M., Banchereau, J., & Miossec, P. (1993). Interferon gamma inhibits interleukin 10 production by monocytes. *The Journal of experimental medicine*, *177*(2), 523-527.
- Crowley, S. D., Zhang, J., Herrera, M., Griffiths, R., Ruiz, P., & Coffman, T. M. (2011). Role of AT1 receptor-mediated salt retention in angiotensin II-dependent hypertension. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, *301*(5), F1124-F1130.
- D'andrea, A., Aste-Amezaga, M., Valiante, N. M., Ma, X., Kubin, M., & Trinchieri, G. (1993). Interleukin 10 (IL-10) inhibits human lymphocyte interferon gamma production by suppressing natural killer cell stimulatory factor/IL-12 synthesis in accessory cells. *The Journal of experimental medicine*, *178*(3), 1041-1048.

- De Maat, S., De Mast, Q., Danser, A. J., Van De Veerdonk, F. L., & Maas, C. (2020). Impaired breakdown of bradykinin and its metabolites as a possible cause for pulmonary edema in COVID-19 infection. *Seminars in thrombosis and hemostasis*, 46(07), 835-837.
- deBlois, D., Bouthillier, J., & Marceau, F. (1989). Pharmacological modulation of the up-regulated responses to des-Arg<sup>9</sup>-bradykinin in vivo and in vitro. *Immunopharmacology*, 17(3), 187-198.
- Dempsey, E. C., Wick, M. J., Karoor, V., Barr, E. J., et al. (2009). Nephrylysin null mice develop exaggerated pulmonary vascular remodeling in response to chronic hypoxia. *The American journal of pathology*, 174(3), 782-796.
- Deshotels, M. R., Xia, H., Sriramula, S., Lazartigues, E., & Filipeanu, C. M. (2014). Angiotensin II mediates angiotensin converting enzyme type 2 internalization and degradation through an angiotensin ii type i receptor-dependent mechanism. *Hypertension*, 64(6), 1368-1375.
- Dhande, I., Ali, Q., & Hussain, T. (2013). Proximal tubule angiotensin AT2 receptors mediate an anti-inflammatory response via interleukin-10: role in renoprotection in obese rats. *Hypertension*, 61(6), 1218-1226.
- Dhande, I., Ma, W., & Hussain, T. (2015). Angiotensin AT2 receptor stimulation is anti-inflammatory in lipopolysaccharide-activated THP-1 macrophages via increased interleukin-10 production. *Hypertension Research*, 38(1), 21-29.
- Domenig, O., Manzel, A., Grobe, N., Königshausen, E., et al. (2016). Nephrylysin is a mediator of alternative renin-angiotensin-system activation in the murine and human kidney. *Scientific reports*, 6(1), 1-11.
- Donoghue, M., Hsieh, F., Baronas, E., Godbout, K., et al. (2000). A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circulation research*, 87(5), e1-e9.
- Drenjančević-Perić, I., Jelaković, B., Lombard, J., Kunert, M., Kibel, A., & Gros, M. (2011). High-salt diet and hypertension: focus on the renin-angiotensin system. *Kidney and blood pressure Research*, 34(1), 1-11.

- Driessler, F., Venstrom, K., Sabat, R., Asadullah, K., & Schottelius, A. (2004). Molecular mechanisms of interleukin-10-mediated inhibition of NF- $\kappa$  B activity: a role for p50. *Clinical & Experimental Immunology*, 135(1), 64-73.
- Duka, A., Duka, I., Gao, G., Shenouda, S., Gavras, I., & Gavras, H. (2006). Role of bradykinin B1 and B2 receptors in normal blood pressure regulation. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 291(2), E268-E274.
- Duka, I., Duka, A., Kintsurashvili, E., Johns, C., Gavras, I., & Gavras, H. (2003). Mechanisms mediating the vasoactive effects of the B1 receptors of bradykinin. *Hypertension*, 42(5), 1021-1025.
- Duka, I., Kintsurashvili, E., Gavras, I., Johns, C., Bresnahan, M., & Gavras, H. (2001). Vasoactive potential of the B1 bradykinin receptor in normotension and hypertension. *Circulation research*, 88(3), 275-281.
- Elbim, C., Reglier, H., Fay, M., Delarche, C., & Andrieu, V. (2001). Intracellular pool of IL-10 receptors in specific granules of human neutrophils: differential mobilization by proinflammatory mediators. *The Journal of Immunology*, 166(8), 5201-5207.
- Esther, C. R., Marino, E. M., Howard, T. E., Machaud, A., et al. (1997). The critical role of tissue angiotensin-converting enzyme as revealed by gene targeting in mice. *The Journal of clinical investigation*, 99(10), 2375-2385.
- Fiebeler, A., Nussberger, J., Shagdarsuren, E., Rong, S., et al. (2005). Aldosterone synthase inhibitor ameliorates angiotensin II-induced organ damage. *Circulation*, 111(23), 3087-3094.
- Flores-Muñoz, M., Smith, N., Haggerty, C., Milligan, G., & Nicklin, S. (2011). Angiotensin1-9 antagonises pro-hypertrophic signalling in cardiomyocytes via the angiotensin type 2 receptor. *The journal of Physiology*, 589(4), 939-951.
- Fu, Y., Katsuya, T., Matsuo, A., Yamamoto, K., et al. (2004). Relationship of bradykinin B2 receptor gene polymorphism with essential hypertension and left ventricular hypertrophy. *Hypertension Research*, 27(12), 933-938.
- Funakoshi, Y., Ichiki, T., Ito, K., & Takeshita, A. (1999). Induction of interleukin-6 expression by angiotensin II in rat vascular smooth muscle cells. *Hypertension*, 34(1), 118-125.

- Garcia, V., Shkolnik, B., Milhau, L., Falck, J. R., & Schwartzman, M. L. (2016). 20-HETE activates the transcription of Angiotensin-Converting enzyme via nuclear Factor- $\kappa$ B translocation and promoter binding. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 356(3), 525-533.
- George, P. M., Oliver, E., Dorfmueller, P., Dubois, O. D., et al. (2014). Evidence for the involvement of type I interferon in pulmonary arterial hypertension. *Circulation research*, 114(4), 677-688.
- Gheblawi, M., Wang, K., Viveiros, A., Nguyen, Q., Zhong, J.-C., Turner, A. J., et al. (2020). Angiotensin-converting enzyme 2: SARS-CoV-2 receptor and regulator of the renin-angiotensin system: celebrating the 20th anniversary of the discovery of ACE2. *Circulation research*, 126(10), 1456-1474.
- Giudicessi, J. R., & Ackerman, M. J. (2013). Determinants of incomplete penetrance and variable expressivity in heritable cardiac arrhythmia syndromes. *Translational Research*, 161(1), 1-14.
- Gonzalez-Villalobos, R. A., Billet, S., Kim, C., Satou, R., & Fuchs, S. (2011). Intrarenal angiotensin-converting enzyme induces hypertension in response to angiotensin I infusion. *Journal of the American Society of Nephrology*, 22(3), 449-459.
- Granger, J. P. (2006). An emerging role for inflammatory cytokines in hypertension. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 290(3), H923-H924.
- Gu, J.-W., Tian, N., Shparago, M., Tan, W., Bailey, A. P., & Manning Jr, R. D. (2006). Renal NF- $\kappa$ B activation and TNF- $\alpha$  upregulation correlate with salt-sensitive hypertension in Dahl salt-sensitive rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 291(6), R1817-R1824.
- Guo, F., Chen, X.-L., Wang, F., Liang, X., Sun, Y.-X., & Wang, Y.-J. (2011). Role of angiotensin II type 1 receptor in angiotensin II-induced cytokine production in macrophages. *Journal of interferon & cytokine research*, 31(4), 351-361.
- Guzik, T. J., Hoch, N. E., Brown, K. A., McCann, L. A., et al. (2007). Role of the T cell in the genesis of angiotensin II-induced hypertension and vascular dysfunction. *The Journal of experimental medicine*, 204(10), 2449-2460.
- Hall, J. M. (1997). Bradykinin receptors. *General pharmacology*, 28(1), 1-6.

- Hao, P., Liu, Y., Guo, H., Zhang, Z., Chen, Q., Hao, G., Zhang, C., & Zhang, Y. (2020). Prolylcarboxypeptidase mitigates myocardial ischemia/reperfusion injury by stabilizing mitophagy. *Frontiers in cell and developmental biology*, 8, 584933.
- Hargovan, M., & Ferro, A. (2014). Aldosterone synthase inhibitors in hypertension: current status and future possibilities. *JRSM cardiovascular disease*, 3, 2048004014522440.
- Harrison, D. G., Coffman, T. M., & Wilcox, C. S. (2021). Pathophysiology of hypertension: the mosaic theory and beyond. *Circulation Research*, 128(7), 847-863.
- Hiscott, J., Marois, J., Garoufalos, J., D'addario, M., Roulston, A., Kwan, I., et al. (1993). Characterization of a functional NF-kappa B site in the human interleukin 1 beta promoter: evidence for a positive autoregulatory loop. *Molecular and cellular biology*, 13(10), 6231-6240.
- Hoffman, W. E., Albrecht, R. F., & Miletich, D. J. (1986). Effect of sympathetic blockade on central prostaglandin E2-induced hyperthermia. *Brain research*, 367(1-2), 73-76.
- <https://digitalinsights.qiagen.com/coronavirus-network-explorer/>. (s.f.). [https : / / digitalinsights.qiagen.com/coronavirus-network-explorer/](https://digitalinsights.qiagen.com/coronavirus-network-explorer/)
- Hu, H., Zhang, R., Dong, L., Chen, E., & Ying, K. (2020). Overexpression of ACE2 prevents hypoxia-induced pulmonary hypertension in rats by inhibiting proliferation and immigration of PSMCs. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 24(7), 3968-3980.
- Hu, X., Paik, P. K., Chen, J., Yamilina, A., Kockeritz, L., & Lu, T. T. (2006). IFN- $\gamma$  suppresses IL-10 production and synergizes with TLR2 by regulating GSK3 and CREB/AP-1 proteins. *Immunity*, 24(5), 563-574.
- Huang, S., & Kauffman, S. (2012). Complex GRN complex Gene Complex GRN Regulatory Networks—from Structure to Biological Observables: Cell Fate Determination Gene regulation, cell fate determination. *Computational complexity: theory, techniques, and applications*, 527-560.
- Imokawa, G. (2016). Epithelial–mesenchymal interaction mechanisms leading to the overexpression of neprilysin are involved in the UVB-induced formation of wrinkles in the skin. *Experimental dermatology*, 25, 2-13.
- Ito, S., Ansari, P., Sakatsume, M., Dickensheets, H., Vazquez, N., et al. (1999). Interleukin-10 Inhibits Expression of Both Interferon $\alpha$ –and Interferon  $\gamma$ –Induced Genes by Suppres-

- sing Tyrosine Phosphorylation of STAT1. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 93(5), 1456-1463.
- Jeong, J., Lee, J., Lim, J., Cho, S., An, S., Lee, M., Yoon, N., & Seo, M. (2019). Soluble RAGE attenuates AngII-induced endothelial hyperpermeability by disrupting HMGB1-mediated crosstalk between AT1R and RAGE. *Experimental & molecular medicine*, 51(9), 1-15.
- Jiang, W., Jiang, H.-F., Pan, C.-S., Cai, D.-Y., Qi, Y.-F., Pang, Y.-Z., & Tang, C.-S. (2004). Relationship between the contents of adrenomedullin and distributions of neutral endopeptidase in blood and tissues of spontaneously hypertensive rats. *Hypertension Research*, 27(2), 109-117.
- Joo, J. I., Zhou, J. X., Huang, S., & Cho, K.-H. (2018). Determining relative dynamic stability of cell states using boolean network model. *Scientific reports*, 8(1), 1-14.
- Kakoki, M., & Smithies, O. (2009). The kallikrein-kinin system in health and in diseases of the kidney. *Kidney international*, 75(10), 1019-1030.
- Kamat, N. V., Thabet, S. R., Xiao, L., Saleh, M. A., Kirabo, A., et al. (2015). Renal transporter activation during angiotensin-II hypertension is blunted in interferon- $\gamma$ -/- and interleukin-17A-/- mice. *Hypertension*, 65(3), 569-576.
- Kamitani, T., Little, M., & Ellis, E. (1985). Evidence for a possible role of the brain kallikrein-kinin system in the modulation of the cerebral circulation. *Circulation research*, 57(4), 545-552.
- Kangussu, L. M., Guimaraes, P. S., Nadu, A. P., Melo, M. B., Santos, R. A., & Campagnole-Santos, M. J. (2015). Activation of angiotensin-(1-7)/Mas axis in the brain lowers blood pressure and attenuates cardiac remodeling in hypertensive transgenic (mRen2) 27 rats. *Neuropharmacology*, 97, 58-66.
- Kaschina, E., Steckelings, U. M., & Unger, T. (2018). Hypertension and the renin-angiotensin-aldosterone system. En *Encyclopedia of Endocrine Diseases* (pp. 505-510). Elsevier Editora.
- Kerbiriou, D., & Griffin, J. (1979). Human high molecular weight kininogen. Studies of structure-function relationships and of proteolysis of the molecule occurring during contact activation of plasma. *Journal of Biological Chemistry*, 254(23), 12020-12027.

- Leeb-Lundberg, L. F., Kang, D. S., Lamb, M. E., & Fathy, D. B. (2001). The human B1 bradykinin receptor exhibits high ligand-independent, constitutive activity: roles of residues in the fourth intracellular and third transmembrane domains. *Journal of Biological Chemistry*, 276(12), 8785-8792.
- Li, F., Long, T., Lu, Y., Ouyang, Q., & Tang, C. (2004). The yeast cell-cycle network is robustly designed. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(14), 4781-4786.
- Ljunggren, Ö., Vavrek, R., Stewart, J. M., & Lerner, U. H. (1991). Bradykinin-induced burst of prostaglandin formation in osteoblasts is mediated via B2 bradykinin receptors. *Journal of Bone and Mineral Research*, 6(8), 807-815.
- Lu, Y., Chen, J., Yin, X., & Zhao, H. (2009). Angiotensin II receptor 1 involved in the central pressor response induced by interleukin-1 beta in the paraventricular nucleus. *Neurological research*, 31(4), 420-424.
- Luft, F. C. (2001). Angiotensin, inflammation, hypertension, and cardiovascular disease. *Current hypertension reports*, 3(1), 61-67.
- Macauley, M., Jenkins, A., & Davies, R. (2019). The Regulation of Gene Expression by Operators and the Local Modeling Framework. En *Algebraic and Combinatorial Computational Biology* (pp. 89-146). Elsevier.
- Madeddu, P., Anania, V., Parpaglia, P. P., Demontis, M. P., et al. (1993). Chronic kinin receptor blockade induces hypertension in deoxycorticosterone-treated rats. *British journal of pharmacology*, 108(3), 651-657.
- Maestri, R., Milia, A. F., Salis, M. B., Graiani, G., Lagrasta, C., Monica, M., et al. (2003). Cardiac hypertrophy and microvascular deficit in kinin B2 receptor knockout mice. *Hypertension*, 41(5), 1151-1155.
- Maier, C., Schadock, I., Haber, P. K., Wysocki, J., et al. (2017). Prolylcarboxypeptidase deficiency is associated with increased blood pressure, glomerular lesions, and cardiac dysfunction independent of altered circulating and cardiac angiotensin II. *Journal of Molecular Medicine*, 95(5), 473-486.
- Maneesai, P., Bunbupha, S., Kukongviriyapan, U., Senggunprai, L., et al. (2017). Effect of asiatic acid on the Ang II-AT1R-NADPH oxidase-NF- $\kappa$ B pathway in renovascu-

- lar hypertensive rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 390(10), 1073-1083.
- Marceau, F., Gendreau, M., Barabe, J., St-Pierre, S., & Regoli, D. (1981). The degradation of bradykinin (BK) and of des-Arg9-BK in plasma. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 59(2), 131-138.
- Marceau, F., Bachelard, H., Bouthillier, J., Fortin, J.-P., Morissette, G., et al. (2020). Bradykinin receptors: Agonists, antagonists, expression, signaling, and adaptation to sustained stimulation. *International immunopharmacology*, 82, 106305.
- Margulies, K. B., Barclay, P. L., & Burnett Jr, J. C. (1995). The role of neutral endopeptidase in dogs with evolving congestive heart failure. *Circulation*, 91(7), 2036-2042.
- Marin-Castaño, M. E., Schanstra, J. P., Neau, E., Praddaude, F., et al. (2002). Induction of functional bradykinin B1-receptors in normotensive rats and mice under chronic angiotensin-converting enzyme inhibitor treatment. *Circulation*, 105(5), 627-632.
- Maroto, S. D. (2000). Inhibidores de la enzima angiotensina convertasa (IECA). *Farmacología e indicaciones terapéuticas. Offarm: farmacia y sociedad*, 19(3), 80-88.
- Masaki, H., Kurihara, T., Yamaki, A., Inomata, N., et al. (1998). Cardiac-specific overexpression of angiotensin II AT2 receptor causes attenuated response to AT1 receptor-mediated pressor and chronotropic effects. *The Journal of clinical investigation*, 101(3), 527-535.
- Mascolo, A., Scavone, C., Rafaniello, C., Ferrajolo, C., et al. (2020). Renin-angiotensin system and Coronavirus disease 2019: A narrative review. *Frontiers in cardiovascular medicine*, 7, 143.
- Matsusaka, T., Nishimura, H., Utsunomiya, H., Kakuchi, J., et al. (1996). Chimeric mice carrying 'regional' targeted deletion of the angiotensin type 1A receptor gene. Evidence against the role for local angiotensin in the in vivo feedback regulation of renin synthesis in juxtaglomerular cells. *The Journal of clinical investigation*, 98(8), 1867-1877.
- McDowell, G., & Nicholls, D. P. (2000). The therapeutic potential of candoxatril, a neutral endopeptidase inhibitor, in humans. *Cardiovascular drug reviews*, 18(4), 259-270.

- Melo, L., Veress, A., Ackermann, U., Pang, S., Flynn, T., & Sonnenberg, H. (1999). Chronic hypertension in ANP knockout mice: contribution of peripheral resistance. *Regulatory peptides*, 79(2-3), 109-115.
- Méndez, A., & Mendoza, L. (2016). A network model to describe the terminal differentiation of B cells. *PLoS computational biology*, 12(1), e1004696.
- Méndez Rangel, A. S. (2014). *Modelo Booleano de la red de regulación que controla la diferenciación de los linfocitos B* (Tesis de maestría). Instituto de Fisiología Celular México.
- Meneton, P., Bloch-Faure, M., Hagege, A. A., Ruetten, H., Huang, W., et al. (2001). Cardiovascular abnormalities with normal blood pressure in tissue kallikrein-deficient mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(5), 2634-2639.
- Miura, S.-i., Nakayama, A., Tomita, S., Matsuo, Y., Suematsu, Y., & Saku, K. (2015). Comparison of aldosterone synthesis in adrenal cells, effect of various AT1 receptor blockers with or without atrial natriuretic peptide. *Clinical and Experimental Hypertension*, 37(5), 353-357.
- Moe, K. T., Khairunnisa, K., Yin, N. O., Chin-Dusting, J., Wong, P., & Wong, M. C. (2014). Tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced nuclear factor-kappaB activation in human cardiomyocytes is mediated by NADPH oxidase. *Journal of physiology and biochemistry*, 70(3), 769-779.
- Morishita, R., Gibbons, G., Ellison, K., et al. (1994). Evidence for direct local effect of angiotensin in vascular hypertrophy. In vivo gene transfer of angiotensin converting enzyme. *The Journal of clinical investigation*, 94(3), 978-984.
- Mussel, C., Hopfensitz, M., & Kestler, H. A. (2010). BoolNet—an R package for generation, reconstruction and analysis of Boolean networks. *Bioinformatics*, 26(10), 1378-1380.
- Nadar, S., & Lip, G. (2015). *Hypertension*. Oxford University Press. <https://books.google.com.mx/books?id=78f9CAAAQBAJ>
- Nakagawa, H., Kumazawa, T., Onoue, K., Nakada, Y., et al. (2021). Local action of neprilysin exacerbates pressure overload induced cardiac remodeling. *Hypertension*, 77(6), 1931-1939.

- Nakhostine, N., Ribuot, C., Lamontagne, D., Nadeau, R., & Couture, R. (1993). Mediation by B1 and B2 receptors of vasodepressor responses to intravenously administered kinins in anaesthetized dogs. *British journal of pharmacology*, *110*(1), 71.
- Ni, A., Chao, L., & Chao, J. (1998). Transcription factor nuclear factor  $\kappa$ B regulates the inducible expression of the human B1 receptor gene in inflammation. *Journal of Biological Chemistry*, *273*(5), 2784-2791.
- Ni, A., Yin, H., Agata, J., Yang, Z., Chao, L., & Chao, J. (2003). Overexpression of kinin B1 receptors induces hypertensive response to des-Arg<sup>9</sup>-bradykinin and susceptibility to inflammation. *Journal of Biological Chemistry*, *278*(1), 219-225.
- Norambuena-Soto, I., Ocaranza, M. P., Cancino-Arenas, N., et al. (2020). Angiotensin-(1–9) prevents vascular remodeling by decreasing vascular smooth muscle cell dedifferentiation through a FoxO1-dependent mechanism. *Biochemical pharmacology*, *180*, 114190.
- Ocaranza, M. P., Lavandero, S., Jalil, J. E., Moya, J., et al. (2010). Angiotensin-(1–9) regulates cardiac hypertrophy in vivo and in vitro. *Journal of hypertension*, *28*(5), 1054-1064.
- Opal, S. M., & DePalo, V. A. (2000). Anti-inflammatory cytokines. *Chest*, *117*(4), 1162-1172.
- Oshima, G., Gecse, A., & Erdös, E. (1974). Angiotensin I-converting enzyme of the kidney cortex. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Enzymology*, *350*(1), 26-37.
- Oyagbemi, A. A., Omobowale, T. O., Asenuga, E. R., Adejumobi, A. O., et al. (2017). Sodium fluoride induces hypertension and cardiac complications through generation of reactive oxygen species and activation of nuclear factor kappa beta. *Environmental toxicology*, *32*(4), 1089-1101.
- Palmieri, F. E., Bausback, H. H., Churchill, L., & Ward, P. E. (1986). Kinin and enkephalin conversion by an endothelial, plasma membrane carboxypeptidase. *Biochemical pharmacology*, *35*(16), 2749-2756.
- Paquet, J.-L., Luccarini, J.-M., Fouchet, C., Defrene, E., et al. (1999). Pharmacological characterization of the bradykinin B2 receptor: inter-species variability and dissociation

- between binding and functional responses. *British journal of pharmacology*, 126(5), 1083-1090.
- Patel, S., & Hussain, T. (2018). Dimerization of AT<sub>2</sub> and mas receptors in control of blood pressure. *Current hypertension reports*, 20(5), 1-9.
- Phagoo, S. B., Yaqoob, M., Herrera-Martinez, E., McIntyre, P., Jones, C., & Burgess, G. M. (2000). Regulation of bradykinin receptor gene expression in human lung fibroblasts. *European journal of pharmacology*, 397(2-3), 237-246.
- Polichnowski, A. J., Lu, L., & Cowley Jr, A. W. (2011). Renal injury in angiotensin II+ l-NAME-induced hypertensive rats is independent of elevated blood pressure. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 300(4), F1008-F1016.
- Poole, S., Cunha, F. d. Q., Selkirk, S., Lorenzetti, B., & Ferreira, S. (1995). Cytokine-mediated inflammatory hyperalgesia limited by interleukin-10. *British journal of pharmacology*, 115(4), 684.
- Pratt, R., Flynn, J., Hobart, P., Paul, M., & Dzau, V. (1988). Different secretory pathways of renin from mouse cells transfected with the human renin gene. *Journal of Biological Chemistry*, 263(7), 3137-3141.
- Pugazhenthii, S., Zhang, Y., Bouchard, R., & Mahaffey, G. (2013). Induction of an inflammatory loop by interleukin-1 $\beta$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  involves NF- $\kappa$ B and STAT-1 in differentiated human neuroprogenitor cells. *PloS one*, 8(7), e69585.
- Qadri, F., & Bader, M. (2018). Kinin B1 receptors as a therapeutic target for inflammation. *Expert opinion on therapeutic targets*, 22(1), 31-44.
- Qiu, M., Shu, H., Li, L., Shen, Y., Tian, Y., Ji, Y., Sun, W., Lu, Y., & Kong, X. (2022). Interleukin 10 Attenuates Angiotensin II-Induced Aortic Remodelling by Inhibiting Oxidative Stress-Induced Activation of the Vascular p38 and NF- $\kappa$ B Pathways. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2022.
- Rabelo, L. A., Xu, P., Todiras, M., Sampaio, W. O., et al. (2008). Ablation of angiotensin (1-7) receptor Mas in C57Bl/6 mice causes endothelial dysfunction. *Journal of the American Society of Hypertension*, 2(6), 418-424.
- Rakušan, D., Bürgelová, M., Vaněčková, I., Vaňourková, Z., Husková, Z., Škaroupková, P., et al. (2010). Knockout of angiotensin 1–7 receptor mas worsens the course of two-

- kidney, one-clip goldblatt hypertension: roles of nitric oxide deficiency and enhanced vascular responsiveness to angiotensin II. *Kidney and Blood Pressure Research*, 33(6), 476-488.
- Rentzsch, B., Todiras, M., Iliescu, R., Popova, E., et al. (2008). Transgenic angiotensin-converting enzyme 2 overexpression in vessels of SHRSP rats reduces blood pressure and improves endothelial function. *Hypertension*, 52(5), 967-973.
- Rex, D., Deepak, K., Vaid, N., Dagamajalu, S., et al. (2022). A modular map of Bradykinin-mediated inflammatory signaling network. *Journal of Cell Communication and Signaling*, 16(2), 301-310.
- Rhaleb, N.-E., Yang, X.-P., & Carretero, O. A. (2011). The kallikrein-kinin system as a regulator of cardiovascular and renal function. *Comprehensive Physiology*, 1(2), 971.
- Rhaleb, N.-E., Yang, X.-P., Nanba, M., Shesely, E. G., & Carretero, O. A. (2001). Effect of chronic blockade of the kallikrein-kinin system on the development of hypertension in rats. *Hypertension*, 37(1), 121-128.
- Rice, G. I., Thomas, D. A., Grant, P. J., Turner, A. J., & Hooper, N. M. (2004). Evaluation of angiotensin-converting enzyme (ACE), its homologue ACE2 and neprilysin in angiotensin peptide metabolism. *Biochemical Journal*, 383(1), 45-51.
- Richards, A. M., Wittert, G. A., Espiner, E. A., Yandle, T. G., Ikram, H., & Frampton, C. (1992). Effect of inhibition of endopeptidase 24.11 on responses to angiotensin II in human volunteers. *Circulation research*, 71(6), 1501-1507.
- Rincón, J., Correia, D., Arcaya, J., Finol, E., et al. (2015). Role of Angiotensin II type 1 receptor on renal NAD (P) H oxidase, oxidative stress and inflammation in nitric oxide inhibition induced-hypertension. *Life sciences*, 124, 81-90.
- Rust, P., & Ekmekcioglu, C. (2017). Impact of salt intake on the pathogenesis and treatment of hypertension. *Hypertension: from basic research to clinical practice*, 61-84.
- Sabatini, F., Luppi, F., Petecchia, L., Di Stefano, A., Longo, A. M., et al. (2013). Bradykinin-induced asthmatic fibroblast/myofibroblast activities via bradykinin B2 receptor and different MAPK pathways. *European journal of pharmacology*, 710(1-3), 100-109.

- Saleh, M. A., McMaster, W. G., Wu, J., Norlander, A. E., et al. (2015). Lymphocyte adaptor protein LNK deficiency exacerbates hypertension and end-organ inflammation. *The Journal of clinical investigation*, *125*(3), 1189-1202.
- Sangal, R. B., Taylor, L. E., Gillani, F., Poppas, A., Klinger, J. R., & Ventetuolo, C. E. (2014). Risk of echocardiographic pulmonary hypertension in individuals with human immunodeficiency virus–hepatitis C virus coinfection. *Annals of the American Thoracic Society*, *11*(10), 1553-1559.
- Santos, R. A., e Silva, A. C. S., et al. (2003). Angiotensin-(1–7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *100*(14), 8258-8263.
- Satou, R., Penrose, H., & Navar, L. G. (2018). Inflammation as a regulator of the renin-angiotensin system and blood pressure. *Current hypertension reports*, *20*(12), 1-9.
- Savale, L., Sattler, C., Günther, S., Montani, D., Chaumais, M.-C., et al. (2014). Pulmonary arterial hypertension in patients treated with interferon. *European Respiratory Journal*, *44*(6), 1627-1634.
- Savoia, C., Arrabito, E., Parente, R., Nicoletti, C., et al. (2020). Mas receptor activation contributes to the improvement of nitric oxide bioavailability and vascular remodeling during chronic AT1R (Angiotensin Type-1 Receptor) blockade in experimental hypertension. *Hypertension*, *76*(6), 1753-1761.
- Schanstra, J. P., Bataillé, E., Castano, M. M., Barascud, Y., Hirtz, C., et al. (1998). The B1-agonist [des-Arg10]-kallidin activates transcription factor NF-kappaB and induces homologous upregulation of the bradykinin B1-receptor in cultured human lung fibroblasts. *The Journal of clinical investigation*, *101*(10), 2080-2091.
- Schewe, J., Seidel, E., Forslund, S., Marko, L., Peters, J., et al. (2019). Elevated aldosterone and blood pressure in a mouse model of familial hyperaldosteronism with CIC-2 mutation. *Nature communications*, *10*(1), 1-14.
- Scholz, C. C., Cavadas, M. A., Tambuwala, M. M., Hams, E., et al. (2013). Regulation of IL-1 $\beta$ -induced NF- $\kappa$ B by hydroxylases links key hypoxic and inflammatory signaling pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110*(46), 18490-18495.

- Schütze, S., Wiegmann, K., Machleidt, T., & Krönke, M. (1995). TNF-induced activation of NF- $\kappa$ B. *Immunobiology*, 193(2-4), 193-203.
- Shah, A., Gul, R., Yuan, K., Gao, S., Oh, Y.-B., Kim, U.-H., & Kim, S. H. (2010). Angiotensin-(1-7) stimulates high atrial pacing-induced ANP secretion via Mas/PI3-kinase/Akt axis and Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 298(5), H1365-H1374.
- Shariat-Madar, Z., Mahdi, F., & Schmaier, A. H. (2002). Identification and characterization of prolylcarboxypeptidase as an endothelial cell prekallikrein activator. *Journal of Biological Chemistry*, 277(20), 17962-17969.
- Shariat-Madar, Z., Mahdi, F., & Schmaier, A. H. (2004). Recombinant prolylcarboxypeptidase activates plasma prekallikrein. *Blood*, 103(12), 4554-4561.
- Shenoy, V., Ferreira, A. J., Qi, Y., Fraga-Silva, R. A., Diez-Freire, C., et al. (2010). The angiotensin-converting enzyme 2/angiogenesis-(1-7)/Mas axis confers cardiopulmonary protection against lung fibrosis and pulmonary hypertension. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 182(8), 1065-1072.
- Shi, P., Diez-Freire, C., Jun, J. Y., Qi, Y., Katovich, M. J., et al. (2010). Brain microglial cytokines in neurogenic hypertension. *Hypertension*, 56(2), 297-303.
- Sikka, G., Miller, K. L., Stepan, J., Pandey, D., et al. (2013). Interleukin 10 knockout frail mice develop cardiac and vascular dysfunction with increased age. *Experimental gerontology*, 48(2), 128-135.
- Siragy, H. M., Inagami, T., Ichiki, T., & Carey, R. M. (1999). Sustained hypersensitivity to angiotensin II and its mechanism in mice lacking the subtype-2 (AT<sub>2</sub>) angiotensin receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(11), 6506-6510.
- Siragy, H. M., Jaffa, A. A., & Margolius, H. S. (1997). Bradykinin B<sub>2</sub> receptor modulates renal prostaglandin E<sub>2</sub> and nitric oxide. *Hypertension*, 29(3), 757-762.
- Skidgel, R. A., & Erdös, E. G. (2007). Structure and function of human plasma carboxypeptidase N, the anaphylatoxin inactivator. *International immunopharmacology*, 7(14), 1888-1899.
- Sodhi, C. P., Wohlford-Lenane, C., Yamaguchi, Y., Prindle, T., et al. (2018). Attenuation of pulmonary ACE2 activity impairs inactivation of des-Arg<sup>9</sup> bradykinin/BKB<sub>1R</sub> axis

- and facilitates LPS-induced neutrophil infiltration. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 314(1), L17-L31.
- Souza, L. L., & Costa-Neto, C. M. (2012). Angiotensin-(1–7) decreases LPS-induced inflammatory response in macrophages. *Journal of cellular physiology*, 227(5), 2117-2122.
- Sriramula, S., Cardinale, J. P., Lazartigues, E., & Francis, J. (2011). ACE2 overexpression in the paraventricular nucleus attenuates angiotensin II-induced hypertension. *Cardiovascular research*, 92(3), 401-408.
- Sriramula, S., Haque, M., Majid, D. S., & Francis, J. (2008). Involvement of tumor necrosis factor- $\alpha$  in angiotensin II-mediated effects on salt appetite, hypertension, and cardiac hypertrophy. *Hypertension*, 51(5), 1345-1351.
- Sriramula, S., & Lazartigues, E. (2017). Kinin B1 receptor promotes neurogenic hypertension through activation of centrally mediated mechanisms. *Hypertension*, 70(6), 1122-1131.
- Steiner, M. K., Syrkin, O. L., Kolliputi, N., Mark, E. J., Hales, C. A., & Waxman, A. B. (2009). Interleukin-6 overexpression induces pulmonary hypertension. *Circulation research*, 104(2), 236-244.
- Steinhilber, M. E., Cochrane, K. L., & Field, L. J. (1990). Hypotension in transgenic mice expressing atrial natriuretic factor fusion genes. *Hypertension*, 16(3), 301-307.
- Summers, C., de Kloet, A. D., Krause, E. G., Unger, T., & Steckelings, U. M. (2015). Angiotensin type 2 receptors: blood pressure regulation and end organ damage. *Current opinion in pharmacology*, 21, 115-121.
- Sun, X.-N., Li, C., Liu, Y., Du, L.-J., Zeng, M.-R., et al. (2017). T-cell mineralocorticoid receptor controls blood pressure by regulating interferon-gamma. *Circulation research*, 120(10), 1584-1597.
- Swan, C. E., & Breyer, R. M. (2011). Prostaglandin E2 modulation of blood pressure homeostasis: studies in rodent models. *Prostaglandins & other lipid mediators*, 96(1-4), 10-13.
- Székely Jr, T., & Burrage, K. (2014). Stochastic simulation in systems biology. *Computational and structural biotechnology journal*, 12(20-21), 14-25.

- Tamaoki, J., Kobayashi, K., Sakai, N., Chiyotani, A., Kanemura, T., & Takizawa, T. (1989). Effect of bradykinin on airway ciliary motility and its modulation by neutral endopeptidase. *Am Rev Respir Dis*, *140*(2), 430-5.
- Tan, R., Ahn, Y. M., Kim, H. Y., Lee, Y. J., Cho, K. W., Kang, D. G., & Lee, H. S. (2018). Atrial secretion of ANP is suppressed in renovascular hypertension: shifting of ANP secretion from atria to the left ventricle. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, *315*(3), H590-H601.
- Tanase, D. M., Gosav, E. M., Radu, S., Ouatu, A., Rezus, C., et al. (2019). Arterial hypertension and interleukins: potential therapeutic target or future diagnostic marker? *International journal of hypertension*, 2019.
- Timmermann, T., González, B., & Ruz, G. A. (2020). Reconstruction of a gene regulatory network of the induced systemic resistance defense response in Arabidopsis using boolean networks. *BMC bioinformatics*, *21*, 1-16.
- Tom, B., de Vries, R., Saxena, P. R., & Danser, A. J. (2001). Bradykinin potentiation by angiotensin-(1-7) and ACE inhibitors correlates with ACE C- and N-domain blockade. *Hypertension*, *38*(1), 95-99.
- van der Velden, V. H., Naber, B. A., van der Spoel, P., Hoogsteden, H. C., & Versnel, M. A. (1998). Cytokines and glucocorticoids modulate human bronchial epithelial cell peptidases. *Cytokine*, *10*(1), 55-65.
- van de Veerdonk, F. L., Netea, M. G., van Deuren, M., van der Meer, J. W., de Mast, Q., Brüggemann, R. J., & van der Hoeven, H. (2020). Kallikrein-kinin blockade in patients with COVID-19 to prevent acute respiratory distress syndrome. *Elife*, *9*.
- Van Haaster, M. C., McDonough, A. A., & Gurley, S. B. (2018). Blood pressure regulation by the angiotensin type 1 receptor in the proximal tubule. *Current opinion in nephrology and hypertension*, *27*(1), 1.
- Vargas Vargas, R. A., Varela Millán, J. M., & Fajardo Bonilla, E. (2021). Renin–angiotensin system: Basic and clinical aspects—A general perspective. *Endocrinología, Diabetes y Nutrición*.

- Vázquez Vigoa, A., Cruz Álvarez, N., González Del Valle, Z., & Vázquez Cruz, A. (1998). Antagonistas de los receptores de angiotensina II. *Revista Cubana de Medicina*, 37(2), 83-92.
- Vazquez-Oliva, G., Fernandez-Real, J., Zamora, A., Vilaseca, M., & Badimon, L. (2005). Lowering of blood pressure leads to decreased circulating interleukin-6 in hypertensive subjects. *Journal of human hypertension*, 19(6), 457-462.
- Wagner-Grau, P. (2010). Fisiopatología de la hipertensión arterial. *Anales de la Facultad de Medicina*, 71(4), 225-229.
- Wang, D.-z., Chao, L., & Chao, J. (1997). Hypotension in transgenic mice overexpressing human bradykinin B2 receptor. *Hypertension*, 29(1), 488-493.
- Wang, L., Walia, B., Evans, J., Gewirtz, A. T., Merlin, D., & Sitaraman, S. V. (2003). IL-6 induces NF- $\kappa$ B activation in the intestinal epithelia. *The Journal of Immunology*, 171(6), 3194-3201.
- Wang, L., Wu, Y., Jia, Z., Yu, J., & Huang, S. (2022). Roles of EP Receptors in the Regulation of Fluid Balance and Blood Pressure. *Frontiers in Endocrinology*, 13.
- Wang, R.-S., Saadatpour, A., & Albert, R. (2012). Boolean modeling in systems biology: an overview of methodology and applications. *Physical biology*, 9(5), 055001.
- Wu, D., Lin, X., Bernloehr, C., Hildebrandt, T., & Doods, H. (2012). Effects of a novel bradykinin B1 receptor antagonist and angiotensin II receptor blockade on experimental myocardial infarction in rats. *PLoS One*, 7(12), e51151.
- Xiao, Y. (2009). A tutorial on analysis and simulation of boolean gene regulatory network models. *Current genomics*, 10(7), 511-525.
- Xu, L., Schüler, R., Xu, C., Seebeck, N., Markova, M., Murahovschi, V., & Pfeiffer, A. F. (2020). Arachidonic acid inhibits the production of angiotensin-converting enzyme in human primary adipocytes via a NF- $\kappa$ B-dependent pathway. *Annals of Translational Medicine*, 8(24).
- Xue, B., Beltz, T. G., Yu, Y., Guo, F., Gomez-Sanchez, C. E., Hay, M., & Johnson, A. K. (2011). Central interactions of aldosterone and angiotensin II in aldosterone-and angiotensin II-induced hypertension. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 300(2), H555-H564.

- Xue, B., Zhang, Z., Johnson, R. F., Guo, F., Hay, M., & Johnson, A. K. (2013). Central endogenous angiotensin-(1-7) protects against aldosterone/NaCl-induced hypertension in female rats. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 305(5), H699-H705.
- Yan, Y., Zhou, A., Carrell, R. W., & Read, R. J. (2019). Structural basis for the specificity of renin-mediated angiotensinogen cleavage. *Journal of Biological Chemistry*, 294(7), 2353-2364.
- Yang, X., Orgah, J., Wang, D., Fan, G., Jingyang, H., Han, J., Qin, G., Gao, X., & Zhu, Y. (2017). Danhong injection reduces vascular remodeling and up-regulates the Kallikrein-kinin system in spontaneously hypertensive rats. *Scientific Reports*, 7(1), 1-10.
- Ye, J., Que, B., Huang, Y., Lin, Y., Chen, J., et al. (2019). Interleukin-12p35 knockout promotes macrophage differentiation, aggravates vascular dysfunction, and elevates blood pressure in angiotensin II-infused mice. *Cardiovascular Research*, 115(6), 1102-1113.
- Zhang, J.-M., & An, J. (2007). Cytokines, inflammation and pain. *International anesthesiology clinics*, 45(2), 27.
- Zhang, Y., Adner, M., & Cardell, L.-O. (2007). IL-1 $\beta$ -Induced Transcriptional Up-Regulation of Bradykinin B1 and B2 Receptors in Murine Airways. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 36(6), 697-705.
- Zhou, Y., Jiang, J., Cui, Y., & Wu, Q. (2009). Corin, atrial natriuretic peptide and hypertension.
- Zhu, L., Carretero, O. A., Liao, T.-D., Harding, P., Li, H., Summers, C., & Yang, X.-P. (2010). Role of Prolylcarboxypeptidase in Angiotensin II Type 2 Receptor-Mediated Bradykinin Release in Mouse Coronary Artery Endothelial Cells. *Hypertension*, 56(3), 384-390.
- Zhu, L., Carretero, O. A., Xu, J., Harding, P., Ramadurai, N., et al. (2015). Activation of angiotensin II type 2 receptor suppresses TNF- $\alpha$ -induced ICAM-1 via NF- $\kappa$ B: possible role of ACE2. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 309(5), H827-H834.

Ziegler, C. G., Allon, S. J., Nyquist, S. K., et al. (2020). SARS-CoV-2 receptor ACE2 is an interferon-stimulated gene in human airway epithelial cells and is detected in specific cell subsets across tissues. *Cell*, *181*(5), 1016-1035.

# 11

## Anexo

### 11.1. Código para generar la dinámica de la red.

#### 11.1.1. Funciones

El presente código fue generado en base a lo reportado en la tesis titulada; Acople de redes de regulación de la diferenciación y el ciclo celular : la raíz de *Arabidopsis thaliana* como modelo (Arciniega, 2020). Finalmente, el código utilizado para el presente estudio se puede consultar a continuación y puede ser revisado en la siguiente dirección: [https://github.com/cxro-cc/red\\_ras\\_kks](https://github.com/cxro-cc/red_ras_kks):

```
1 library(BoolNet)
2 library(BoolNetPerturb)
3 library(tidyverse)
4 library(erer)

1 # Para cargar la red y las etiquetas
2 data_net <- function(network, labels) {
3   bool_net <- loadNetwork(file = network)
4   bool_labels <- as.data.frame(read.csv(file = labels, header = TRUE))
5   net_data <- list(network = bool_net, labels = bool_labels)
6   return(net_data) }
7
8 # Para obtener atractores (etiquetados), predeterminada para
9 # evaluar la red en estado asincrono. Se pueden colocar nodos con
```

```

10 # mutaciones de perdida o ganancia de funcion
11 attractors <- function(bool_net, labels_net, type = "asynchronous",
12                       states = 100, geneON = NULL, geneOFF = NULL) {
13
14   net_attr <- getAttractors(network = bool_net,
15                             type = type,
16                             startStates = states,
17                             genesON = c(geneON),
18                             genesOFF = c(geneOFF))
19
20   #Etiquetado de cada atractor obtenido
21   labelsObj <- BoolNetPerturb::labelAttractors(attr = net_attr,
22   label.rules = labels_net)
23   #Conversion de atractores a dataframe
24   labeled_attr <- attractorsToLaTeX(net_attr)
25   labeled_attr <- as.data.frame(labeled_attr)
26
27   # Se pueden encontrar diferentes atractores y
28   # por tanto diferentes reglas de etiquetado
29   ## Atractores completamente caoticos/complejos ----
30   if (ncol(labeled_attr) == 0) {
31     labeled_attr <- c("complex attractor ")
32     ## Atractores con estados estables y un atractor caotico ----
33   } else if (ncol(labeled_attr) != length(labelsObj)) {
34     print(paste0("complex attractor ", geneON, geneOFF ) )
35     # Cambio en el nombre de las columnas omitiendo a los atractores
36     caoticos
37     colnames(labeled_attr) <- labelsObj[1:length(labeled_attr)]
38     ## Atractores con estados estables ----
39   } else if (ncol(labeled_attr) == length(labelsObj)) {
40     colnames(labeled_attr) <- labelsObj
41   }
42   return(labeled_attr)}
43 # Para obtener los mutantes
44 # funcion attractors para cada uno de los nodos

```

```

45 # y el resultado lo guarda en una lista
46 # UP_REG = TRUE evalua las mutantes de sobre expresion
47 # DOWN_REG = TRUE evalua las mutantes de perdida de funcion
48 # set_gene = nombre del gen que se quiere evaluar como constitutivo
49 # o perdida de funcion entre comillas
50 # gene_value = valor del gen evaluado en set_value,
51 # este valor tiene que ser 0 o 1.
52 # 0 = perdida de funcion
53 # 1 = ganancia de funcion
54 mutants <- function(bool_net, labels_net, UP_REG = FALSE, DOWN_REG =
      FALSE,
55                       set_gene = NULL, gene_value = NULL, states = 100) {
56   bool_net <- fixGenes(network = bool_net,
57                       fixIndices = set_gene,
58                       values = gene_value)
59   if(UP_REG == TRUE) {
60     mut <- lapply(X = bool_net$genes,
61                 function (x) attractors(bool_net = bool_net,
62                                         geneON = x,
63                                         labels_net = labels_net,
64                                         states = states))
65     names(mut) <- paste("UP", bool_net$genes, sep = "_")
66   } else if (DOWN_REG == TRUE) {
67     mut <- lapply(X = bool_net$genes,
68                 function (x) attractors(bool_net = bool_net,
69                                         geneOFF = x,
70                                         labels_net = labels_net,
71                                         states = states))
72     names(mut) <- paste("DW", bool_net$genes, sep = "_")
73   }
74   return(mut) }

```

### 11.1.2. Datos

Los datos que se utilizaron para poder correr esta red son: el archivo de las funciones lógicas en formato *.txt*:

```

1     targets, factors
2 ACE,  NFKB & !Ang17
3 ACE2,  (IFNa & !AT1R) | (AT2R & ! AT1R)
4 Aldosterone,  AT1R & !ANP
5 Ang17,  (Ang19 & ACE) | (ACE2 & AngII) | (NEP & AngI)
6 Ang19,  AngI & ACE2
7 AngI,  Renin
8 AngII,  AngI & ACE & !NEP
9 ANP,  (!NEP & !AT1R & AT2R) | (!NEP & !AT1R & MasR) | (!NEP & AT2R & MasR
    ) | (!AT1R & AT2R & MasR)
10 AT1R,  AngII
11 AT2R,  Ang19 | AngII
12 BDKRB1,  (IL1B & TNFa & NFKB) | desArg9BK
13 BDKRB2,  Bradykinin
14 Bradykinin,  KLKB1 & !ACE
15 CPN,  CPN
16 desArg9BK,  Bradykinin & CPN & !ACE2
17 IFNa,  !IL10
18 IFNG,  (IL12 & IL1B) | (AT1R & !IL10)
19 IL10,  (TNFa & !IFNG) | (AT2R & !IFNG)
20 IL12,  (BDKRB2 & !IL10) | AngII
21 IL1B,  AT1R & NFKB
22 IL6,  AT1R & !MasR
23 KLKB1,  PRCP
24 MasR,  Ang17
25 NEP,  IL1B & !IFNG
26 NFKB,  (IL6 & !IL10) | (BDKRB1 & !IL10) | (IL1B & !IL10) | (TNFa & !
    IL10) | (AT1R & !IL10)
27 PGE2,  BDKRB1 | BDKRB2
28 PRCP,  AT2R
29 Renin,  Renin
30 TNFa,  !IL10 & AT1R

```

Y el archivo de las etiquetas en formato .csv:

```

1 labels, rules
2 Hiper,  (ACE & AT1R & BDKRB1) | (ACE & AT1R) | (ACE & AT1R & AngII & IFNG

```

```

    & BDKRB1)
3 Hipo, ((ACE2 & AT2R & IL10 & BDKRB2) & ( AngII | Ang19) & ! AT1R) | (
    MasR & Ang17)

```

### 11.1.3. Código

Con las funciones anteriores, las librerías y los datos ya guardados se puede correr el siguiente código, en el cual ya se guardaron los datos de las reglas como **reglas\_ras.txt** y las etiquetas como **labels\_ras.csv**. Con esto obtenemos los atractores ya etiquetados y la lista de atractores con cada una de las mutaciones de pérdida y ganancia de función para cada nodo, datos que pueden ser guardados en formato **.csv** con el comando que está comentado.

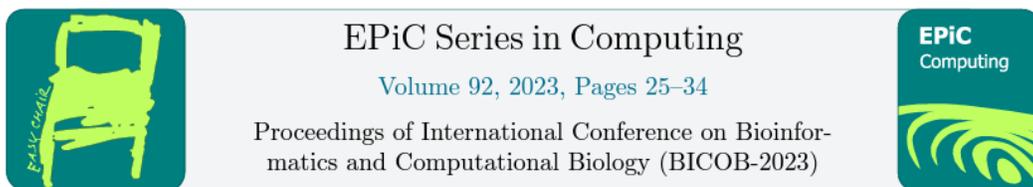
```

1 red <- data_net("reglas_ras.txt", "labels_ras.csv")
2
3 atractores <- attractors(bool_net = red$network, labels_net = red$labels,
4                          type = "asynchronous", states = 10000,
5                          geneON = c("Renin", "CPN"))
6 atractores
7
8 mutantes <- mutants(bool_net = red$network, labels_net = red$labels,
9 UP_REG = TRUE, set_gene = c("Renin", "CPN"),
10 gene_value = c(1,1), states = 10000)
11
12 #write.csv(mutantes, file = "mutantes_up_nvo.csv", row.names = TRUE)
13
14 mutantes_d <- mutants(bool_net = red$network, labels_net = red$labels,
15 DOWN_REG = TRUE, set_gene = c("Renin", "CPN"),
16 gene_value = c(1,1), states = 10000)
17
18 #write.csv(mutantes_d, file = "mutantes_down_nvo.csv", row.names = T)

```

12

## Anexo 2: Artículo publicado por este proyecto



Uncovering the interplay between hypertension and the inflammatory response for the patient affected by COVID-19 via mathematical modeling and computer-based analysis

Rosario Pacheco-Marin<sup>1</sup>, Carolina Caballero-Cordero<sup>2</sup>, Jorge Arturo Arciniega-González<sup>3</sup>, Elena R. Álvarez-Buylla<sup>4</sup>, and Juan Carlos Martínez-García<sup>5</sup>

Figura 12.1: Portada de artículo en Epic Series Computing

Parte de este trabajo fue aceptado en enero del 2023 por; International Conference on Bioinformatics and Computational Biology (BICOB 2023). Disponible en <https://doi.org/10.29007/b5v4>