



Universidad Michoacana de San Nicolás
de Hidalgo

Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas



**Efecto del diazóxido y el ejercicio sobre el funcionamiento
del músculo esquelético de ratas hipertensas**

Tesis

que presenta:

Biol. Estefanía Bravo Sánchez

para obtener el grado de Maestría en Ciencias en Biología
Experimental

Directores de tesis:

D. en C. Rocío del Carmen Montoya Pérez

D. en C. Salvador Manzo Ávalos

Morelia, Michoacán

Octubre, 2022

ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| Resumen | 6 |
| Abstract | 7 |
| 1. INTRODUCCIÓN | 8 |
| 2. ANTECEDENTES | 10 |
| 2.1 Hipertensión | 10 |
| 2.1.1 Tipos de hipertensión | 11 |
| 2.1.1.1 Hipertensión primaria o esencial | 11 |
| 2.1.1.2 Hipertensión sistólica aislada o permanente. | 12 |
| 2.1.1.3 Hipertensión secundaria | 12 |
| 2.1.2 Mecanismos de la regulación de la presión arterial | 12 |
| 2.1.3 Sistema renina-angiotensina-aldosterona | 13 |
| 2.1.4 Mecanismos de hipertensión por exceso de sodio | 14 |
| 2.1.5 Complicaciones de la hipertensión | 16 |
| 2.2 Músculo | 16 |
| 2.2.1 Músculo esquelético | 17 |
| 2.2.1.1 Estructura general del músculo esquelético | 17 |
| 2.2.1.2 Miofibrillas | 18 |
| 2.2.1.3 Ultraestructura de la sarcómera | 19 |
| 2.2.1.4 Proteínas del sarcómero | 20 |
| 2.2.1.4.1 Miosina | 21 |
| 2.2.1.4.2 Actina | 21 |
| 2.2.1.4.3 Troponinas y tropomiosina | 22 |
| 2.2.1.4.4 Titina | 22 |
| 2.2.1.5 Clasificación de las fibras musculares | 22 |
| 2.2.1.5.1 Fibras de tipo I | 23 |
| 2.2.1.5.2 Fibras de tipo IIa | 23 |
| 2.2.1.5.3 Fibras de tipo IIx. | 24 |
| 2.2.1.6 Función del músculo esquelético | 24 |
| 2.2.1.6.1 Contracción muscular | 24 |
| 2.2.1.6.2 Potencial de acción sobre el sarcolema | 24 |
| 2.2.1.6.3 Teoría del filamento deslizante de la contracción. | 26 |
| 2.2.1.6.4 Acoplamiento excitación-contracción: la señal de calcio | 27 |
| 2.3 Músculo esquelético durante la hipertensión arterial | 29 |
| 2.4 Estrés oxidante durante la hipertensión | 30 |
| 2.4.1 Estrés oxidante en el músculo esquelético durante la hipertensión | 32 |
| 2.5 Ejercicio | 33 |
| 2.6 Canales de K⁺ sensibles a ATP | 34 |
| 2.7 Diazóxido | 36 |
| 3. JUSTIFICACIÓN | 37 |
| 4. HIPÓTESIS | 37 |
| 5. OBJETIVOS | 38 |

| | |
|--|-----------|
| 5.1 General | 38 |
| 5.2 Específicos | 38 |
| 6. MATERIALES Y MÉTODOS | 38 |
| 6.1. Material biológico | 38 |
| 6.2 Presión sanguínea | 39 |
| 6.3 Biomarcadores metabólicos | 40 |
| 6.4 Prueba de tolerancia a la insulina | 40 |
| 6.5 Disección del tejido | 40 |
| 6.6 Registro de tensión | 41 |
| 6.7 Análisis de marcadores de estrés oxidante | 42 |
| 6.7.1 Medición de los niveles de especies reactivas de oxígeno | 42 |
| 6.7.2 Glutación | 42 |
| 6.7.4 Medición de la actividad de la enzima catalasa | 43 |
| 6.8 Análisis estadísticos | 44 |
| 7. RESULTADOS | 44 |
| 7.1 Establecimiento del protocolo experimental de la hipertensión en ratas Wistar con NaCl | 44 |
| 7.2 Efecto del ejercicio y el diazóxido sobre la presión arterial sistólica y diastólica de ratas hipertensas | 46 |
| 7.3 Efecto del ejercicio y diazóxido sobre el peso en ratas hipertensas | 48 |
| 7.4 Efecto del ejercicio y el diazóxido sobre la glucosa sanguínea en ayuno de ratas hipertensas | 49 |
| 7.5 Efecto del ejercicio y el diazóxido sobre la resistencia a la insulina de ratas hipertensas | 50 |
| 7.6 Efecto del diazóxido y ejercicio sobre la fuerza de contracción y la resistencia a la fatiga del músculo EDL y sóleo | 53 |
| 7.7 Efecto del diazóxido y ejercicio sobre los niveles de las Especies Reactivas de Oxígeno en los músculos EDL y sóleo | 57 |
| 7.8 Efecto del diazóxido y ejercicio sobre el estado rédox del glutación en los músculos sóleo y EDL | 59 |
| 7.9 Efecto del diazóxido y el ejercicio sobre la actividad de la enzima catalasa en los músculos EDL y sóleo | 64 |
| 7. DISCUSIÓN | 66 |
| 8. CONCLUSIONES | 74 |
| 9. LITERATURA CITADA | 75 |
| ANEXO 1 | 84 |
| Perfil de lípidos | 84 |

| | |
|--|----|
| Efectos del diazóxido y el ejercicio sobre el perfil de lípidos. | 84 |
| Literatura citada | 89 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|-----------|
| Figura 1. Disposición de los túbulos T y el retículo endoplásmico liso (retículo sarcoplásmico) en el músculo esquelético _____ | 18 |
| Figura 2. Aspecto de las células musculares estriadas _____ | 19 |
| Figura 3. Estructura jerárquica del músculo esquelético _____ | 20 |
| Figura 4. Relación entre los túbulos T y el retículo sarcoplásmico durante el acoplamiento excitación-contracción _____ | 26 |
| Figura 5. Modelo de filamento deslizante de la contracción muscular _____ | 27 |
| Figura 6. Acoplamiento excitación-contracción _____ | 28 |
| Figura 7. Los canales K_{ATP} _____ | 35 |
| Tabla 1. Protocolo de ejercicio de moderada intensidad _____ | 39 |
| Figura 8. Presión arterial sistólica a través del tiempo _____ | 45 |
| Figura 9. Presión arterial diastólica a través del tiempo _____ | 45 |
| Figura 10. Presión arterial sistólica de los diferentes grupos experimentales _____ | 47 |
| Figura 11. Presión arterial diastólica de los diferentes grupos experimentales _____ | 47 |
| Figura 12. Peso corporal de los diferentes grupos experimentales _____ | 49 |
| Figura 13. Glucosa sanguínea en ayuno de los diferentes grupos experimentales _____ | 50 |
| Figura 14. Niveles de glucosa de los diferentes grupos experimentales en la prueba de tolerancia a la insulina _____ | 52 |
| Figura 15. Área bajo la curva diferentes grupos experimentales _____ | 52 |
| Figura 16. Fuerza de contracción del músculo EDL de los diferentes grupos experimentales _____ | 55 |
| Figura 17. Tiempo de fatiga del músculo EDL de los diferentes grupos experimentales _____ | 56 |
| Figura 18. Fuerza de contracción del músculo sóleo de los diferentes grupos experimentales _____ | 56 |
| Figura 19. Tiempo de fatiga del músculo EDL de los diferentes grupos experimentales _____ | 57 |
| Figura 20. Niveles de especies reactivas de oxígeno en el músculo EDL de los diferentes grupos experimentales _____ | 58 |
| Figura 21. Niveles de especies reactivas de oxígeno en el músculo sóleo de los diferentes grupos experimentales _____ | 59 |

| | |
|--|-----------|
| Figura 22. Niveles de glutatión total (GHS+GSSG) en el músculo EDL de los diferentes grupos experimentales _____ | 61 |
| Figura 23. Niveles de glutatión oxidado (GSSG) en el músculo EDL de los diferentes grupos experimentales _____ | 62 |
| Figura 24. Niveles de glutatión reducido (GSH) en el músculo EDL de los diferentes grupos experimentales _____ | 62 |
| Figura 25. Niveles de glutatión total (GHS+GSSG) en el músculo sóleo de los diferentes grupos experimentales _____ | 63 |
| Figura 26. Niveles de glutatión oxidado (GSSG) en el músculo sóleo de los diferentes grupos experimentales _____ | 63 |
| Figura 27. Niveles de glutatión reducido (GSH) en el músculo sóleo de los diferentes grupos experimentales _____ | 64 |
| Figura 28. Actividad de la enzima catalasa en el músculo EDL de los diferentes grupos experimentales _____ | 65 |
| Figura 29. Actividad de la enzima catalasa en el músculo sóleo de los diferentes grupos experimentales _____ | 66 |
| Figura 31. Niveles séricos de colesterol de los diferentes grupos experimentales _____ | 85 |
| Figura 32. Niveles séricos de triglicéridos de los diferentes grupos experimentales _____ | 85 |
| Figura 33. Niveles séricos de lipoproteínas de alta densidad (HDL) de los diferentes grupos experimentales _____ | 86 |
| Figura 34. Niveles séricos de lipoproteínas de baja densidad (LDL) de los diferentes grupos experimentales _____ | 86 |
| Figura 35. Niveles séricos de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) de los diferentes grupos experimentales _____ | 87 |

Resumen

La hipertensión arterial (HTA) es una enfermedad que constituye uno de los principales problemas de salud pública en la actualidad. La ingesta elevada de sodio es determinante en el aumento progresivo de la incidencia y prevalencia de la HTA. El papel del sodio desencadena una serie de respuestas que repercuten en la reducción de la funcionalidad y del porcentaje de masa del músculo esquelético. En este trabajo se analizó la influencia del ejercicio y el diazóxido sobre el funcionamiento del músculo esquelético en condiciones de hipertensión. Se asignaron ratas Wistar macho en 8 grupos: control (C), diazóxido (D), ejercicio (E), ejercicio + diazóxido (ED), hipertensión (H), hipertensión + diazóxido (HD), hipertensión + ejercicio (HE) e hipertensión + ejercicio + diazóxido (HED). La hipertensión fue inducida por la ingesta de NaCl al 8% disuelto en agua durante un mes. Después del establecimiento de la enfermedad, se inició el tratamiento con ejercicio físico de moderada intensidad durante 8 semanas. En los últimos 14 días se administró diazóxido (35 mg/kg/día). Se realizó el registro de tensión en el músculo extensor digitorio largo (EDL) y el músculo sóleo para comprobar la generación de fuerza de contracción muscular y la resistencia a la fatiga. Se utilizaron homogenados de tejido muscular para medir los niveles de especies reactivas de oxígeno (ERO) y la actividad de los sistemas antioxidantes. Los resultados mostraron que el diazóxido + ejercicio mejoró la fuerza de contracción muscular y el tiempo de resistencia a la fatiga en músculo sóleo y EDL en animales hipertensos con tratamiento. Los niveles de ERO fueron mayores en ratas hipertensas, y la combinación del fármaco y el ejercicio mostró una disminución de estos valores. Paralelos a esos resultados, la actividad de la enzima catalasa se encontró disminuida en el grupo hipertenso, ésta fue restaurada en el grupo hipertenso ejercitado tratado con diazóxido. Del mismo modo, los resultados para glutatión arrojaron que el glutatión total (GSSG+GSH) y el glutatión reducido (GSH) se encontraron disminuidos en la HTA y el glutatión oxidado (GSSG) se encontró aumentado, pero con los tratamientos estos valores se vieron mejorados. En conclusión, el diazóxido y el ejercicio de moderada intensidad tienen efectos significativos en la funcionalidad del músculo esquelético en ratas hipertensas, esto al reducir el estrés oxidante y mejorar la defensa antioxidante de la catalasa y el estado redox de glutatión.

Palabras clave: Hipertensión, fatiga muscular, estrés, canales K_{ATP}

Abstract

Arterial hypertension (AH) is a disease that constitutes one of the main public health problems today. High sodium intake is decisive in the progressive increase in the incidence and prevalence of hypertension. The role of sodium it triggers a series of responses that have an impact on reduction of functionality and percentage of skeletal muscle mass. In this work, the influence of exercise and diazoxide on skeletal muscle function was analyzed. Male Wistar rats were assigned into 8 groups: control (C), diazoxide (D), exercise (E), exercise + diazoxide (ED), hypertension (H), hypertension + diazoxide (HD), hypertension + exercise (HE) and hypertension + exercise + diazoxide (HED). Hypertension was induced by ingestion of 8% NaCl dissolved in water for one month. After the establishment of the disease, treatment was started with the physical exercise of moderate intensity for 8 weeks. In the last 14 days, diazoxide (35 mg/kg/day) was administered. Tension recording was performed on the extensor digitorum longus muscle (EDL) and the soleus muscle to check the generation of muscle contraction force and resistance to fatigue. Muscle tissue homogenates were used to measure ROS levels and the activity of antioxidant systems. The results showed systolic and diastolic blood pressure effects in hypertensive rats treated with diazoxide and exercise. Diazoxide + exercise improved muscle contraction force and endurance time to fatigue in soleus muscle and EDL in hypertensive animals. Reactive oxygen species (ROS) levels were higher in hypertensive rats, and the combination of the drug and moderate-intensity exercise showed a decrease in these values. Parallel to these results, the activity of the enzyme catalase was found to be impaired in the hypertensive group. At the same time, it was observed that the activity was restored in the exercised hypertensive group treated with diazoxide. Similarly, glutathione results showed that total glutathione (GSSG+GSH) and reduced glutathione (GSH) are decreased in hypertension, and oxidized glutathione (GSSG) is increased, but these values are improved with the treatments. In conclusion, diazoxide and moderate intensity exercise significantly affect skeletal muscle functionality in hypertensive rats by reducing oxidative stress and improving the catalase's antioxidant defense and glutathione's redox state.

Keywords: Hypertension, muscle, exercise, diazoxide.

1. INTRODUCCIÓN

La hipertensión arterial (HTA) es una enfermedad de origen complejo que se considera un problema de salud pública de primera magnitud, debido a su elevada prevalencia, así como por el importante aumento de la morbimortalidad cardiovascular que conlleva (Nava-Santos *et al.* 2016).

La HTA, o presión arterial elevada, es una afección médica grave que aumenta significativamente el riesgo de enfermedades del corazón, el cerebro, los riñones y otros órganos. La hipertensión se puede definir utilizando niveles específicos de presión arterial sistólica y diastólica o el uso informado de medicamentos antihipertensivos (OMS, 2020). Las causas de la HTA son múltiples e involucran diversos factores de riesgo. Estos se expresan por vías fisiopatológicas hoy bien reconocidas que involucran el sistema nervioso autónomo, el control renal de la resistencia vascular y volumen circulante y la regulación del tono vascular en forma directa (Zehnder, 2010).

La ingesta exagerada de sodio, especialmente en la forma de cloruro de sodio, y el reducido aporte de potasio, característicos de la alimentación actual, preparada con alimentos procesados, son determinantes, junto a la obesidad y al sedentarismo, de un aumento progresivo de la incidencia y prevalencia de la hipertensión arterial (Zehnder, 2010).

El sodio se absorbe rápidamente en el intestino, determinando un aumento de la osmolaridad plasmática, esta estimula la sensación de sed y obliga al consumo de agua, con la consiguiente expansión del volumen intravascular. El exceso de sodio potencia el daño endotelial debido al reemplazo intracelular de potasio por sodio, alterando la funcionalidad del endotelio. A su vez, si se elevan las concentraciones de este catión en el líquido cefalorraquídeo, se desencadena una hiperestimulación simpática y una activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). Todos estos efectos, son sin duda, parte de una agresión constante al endotelio vascular; que inducen un aumento de la resistencia vascular periférica y, por ende, hipertensión (Zehnder, 2010; Ekiz *et al.* 2020).

El papel causal del sodio en la estimulación excesiva del SRAA desempeña un papel fundamental en el aumento de la presión arterial, ocasionando disfunción endotelial a través del vasoconstrictor angiotensina II y la aldosterona, que contribuye al aumento del volumen sanguíneo y retención de agua. A su vez, este vasoconstrictor desencadena una serie de respuestas como la baja expresión del GLUT4, aumento de la degradación de proteínas, apoptosis y vasoconstricción. Esto repercute en la reducción de la funcionalidad y del porcentaje de masa del músculo esquelético. De esta manera, la pérdida de masa muscular puede potenciar las vías inflamatorias y oxidativas (Zehnder, 2010; Buckley *et al.* 2020; Ekiz *et al.* 2020).

La contracción y relajación de los músculos lisos vasculares están relacionadas con el potencial de membrana, que está críticamente determinado por la actividad del canal de potasio sensible a ATP (K_{ATP}) y desempeña un papel importante en el tono vascular (Li *et al.* 2020).

Por otro lado, en el músculo esquelético se sugiere que estos canales se activan durante la fatiga y el estrés metabólico, por lo que su función ha recibido gran importancia biomédica para algunas enfermedades (Sánchez-Duarte *et al.* 2020).

El Diazóxido es un agente antihipertensivo que inhibe la secreción de insulina y es un abridor de los canales K_{ATP} . Se ha reportado que es un vasodilatador y tiene efectos de cardioprotección. La activación de los canales K_{ATP} mejoran la contracción muscular y favorece la resistencia a la fatiga, lo que reduce los niveles de radicales libres y especies reactivas de oxígeno, además de aumentar la defensa antioxidante. El diazóxido tiene efectos importantes al mejorar la fuerza de contracción muscular y mejorar el tiempo de resistencia a la fatiga (Alemzadeh *et al.* 2008; Sánchez-Duarte *et al.* 2020).

El ejercicio es un tratamiento no farmacológico que se ha documentado durante mucho tiempo para mejorar la presión arterial, conduciendo a la vasodilatación, mediando la dilatación endotelial, mejorando de esta manera la contracción muscular y su metabolismo. Estudios preclínicos han demostrado que el aumento de masa muscular mejora la tolerancia a la glucosa y la protección renal, además de también aumentar la defensa antioxidante. Todo esto en conjunto, protege al músculo contra la disfunción causada por la hipertensión. Por otro lado, se ha identificado que el ejercicio induce la

participación de los canales K_{ATP} para mejorar la función de las células musculares (Lambertucci *et al.* 2006; Nyberg *et al.* 2015; Sánchez-Duarte *et al.* 2020).

2. ANTECEDENTES

2.1 Hipertensión

La hipertensión (HT), también conocida como tensión arterial alta o elevada, es un trastorno en que los valores sanguíneos tienen una tensión persistentemente alta, lo que puede afectarlos. Cada vez que el corazón late, bombea sangre a los vasos, que llevan la sangre a todas partes del cuerpo. La tensión arterial es la fuerza que ejerce la sangre contra las paredes de los vasos (arterias) al ser bombeada por el corazón. La tensión normal en adultos es de 120 mm Hg cuando el corazón late (tensión sistólica) y de 80 mm Hg cuando el corazón se relaja (tensión diastólica). Cuando la tensión sistólica es igual o superior a 140 mm Hg y/o la tensión diastólica es igual o superior a 90 mm Hg, la tensión arterial es considerada elevada (OMS, 2020).

A nivel mundial, más de uno de cada cinco adultos tiene la tensión arterial elevada. La hipertensión arterial causa anualmente 9.4 millones de muertes en el mundo y contribuye al 12.8% de la mortalidad por todas las causas. En los últimos años, su prevalencia en países de bajos ingresos ha sido del $\approx 40\%$ y, en México durante el año 2016, la prevalencia fue del 30.2%. Se estima que anualmente son diagnosticados $\approx 450,000$ casos nuevos en México, y que esta cifra podría duplicarse si se considera que hasta el 47.3% de los hipertensos desconocen que padecen esta enfermedad (ENSANUT, 2018).

Por lo anterior, la hipertensión arterial (HTA) se considera un problema grave de salud pública debido a que es la causa del 45% de las muertes por cardiopatías y del 51% de las muertes por accidente cerebrovascular y por sus consecuencias sociales y económicas. En Michoacán, el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) reportó 179 fallecimiento por hipertensión (IMSS, 2018).

2.1.1 Tipos de hipertensión

2.1.1.1 Hipertensión primaria o esencial

La HTA es de causas desconocidas en la mayoría de los casos y se denomina como hipertensión arterial esencial o primaria. Alrededor del 95% de los casos de los adultos con tensión arterial alta tienen este tipo de HTA. A través de estudios epidemiológicos, clínicos y experimentales, se ha obtenido el conocimiento de que existen factores genéticos y ambientales cuya conjunción podrían dar lugar a su aparición (Martins *et al.* 2011). Salvo casos aislados en los que la HTA es causada por la alteración específica de un solo gen, la HTA es el resultado entre la alteración de varios factores genéticos (formas poligénicas) y ambientales (López-Acedo *et al.* 2006).

Existen mecanismos que conducen a que esta HTA tenga una base genética de carácter poligénica, tales como el incremento de la actividad de sistemas presores (sistema-renina-angiotensina); la reducción de liberación de sustancias vasopresoras, alteración del endotelio para inducir vasodilatación a través del óxido nítrico y alteraciones de la función de proteínas de la membrana celular que determinan el contenido en calcio (Lifton *et al.* 2001; López-Acedo *et al.* 2006).

Se ha demostrado también una relación entre la ingesta de sal y el desarrollo de la HTA. Existe evidencia científica de una susceptibilidad individual al efecto presor de la sal, que se conoce como sensibilidad a la sal que, por otra parte, también es un factor pronóstico de desarrollar complicaciones y ejemplo de interacción entre medio y genética (López-Acedo *et al.* 2006; Martins *et al.* 2011).

Por otra parte, las personas que padecen obesidad tienen una hiperactividad simpática a nivel central que da lugar a diferentes alteraciones entre las que se incluye a la HTA (López-Acedo *et al.* 2006). Y finalmente, el sedentarismo, el consumo elevado de alcohol, el tabaquismo y el estrés prolongado se relacionan con el mantenimiento de la HTA esencial (Martins *et al.* 2011).

2.1.1.2 Hipertensión sistólica aislada o permanente.

La hipertensión sistólica aislada o permanente es cuando la presión arterial sistólica se encuentra elevada (>140 mm Hg) con una presión diastólica relativamente normal (<90 mm Hg). Esto es debido a la rigidez de la aorta a medida que aumenta la edad y se caracteriza por presiones sistólicas elevadas (Lifton *et al.* 2001; Martins *et al.* 2011).

Existe un aumento de la carga en el ventrículo y compromete al flujo sanguíneo coronario, lo que da como consecuencia una hipertrofia ventricular izquierda, isquemia coronaria e insuficiencia cardíaca (DeLoach y Townsend, 2008).

2.1.1.3 Hipertensión secundaria

Se refiere a un número relativamente pequeño de casos, alrededor del 5% de todos los tipos de hipertensión, donde la causa de la presión arterial alta puede identificarse (enfermedad o tóxico). En estos casos la HTA no suele responder al tratamiento con los fármacos habituales para la HT ni a las medidas dietéticas, controlándose la HT sólo al tratar la enfermedad que la está provocando o retirar la sustancia causante (López-Acedo *et al.* 2006; Martins *et al.* 2011).

Los principales tipos de hipertensión secundaria son la enfermedad renal crónica, la estenosis de la arterial renal, la secreción excesiva de aldosterona y la apnea del sueño (Lifton *et al.* 2001; Martins *et al.* 2011).

2.1.2 Mecanismos de la regulación de la presión arterial

La regulación de la PA está determinada por la acción del sistema nervioso autónomo (SNA) y los centros de regulación cardiovascular del sistema nervioso central (SNC), los factores vasodilatadores y vasoconstrictores y el riñón. La regulación nerviosa mantiene los niveles de PA mediante la corrección y el reajuste instantáneo de los cambios de PA. Los sistemas humorales participan junto con el sistema nervioso simpático (SNS) en la regulación del diámetro de las arterias, por lo que son responsables de los cambios de la resistencia periférica. Tanto el SNS como los sistemas humorales participan en la regulación del crecimiento de los distintos tipos de células de la pared arterial, que tienen

influencia sobre la resistencia periférica. El riñón participa en la regulación de la PA a largo plazo, a través del control de la volemia y, por tanto, del gasto cardíaco, mediante la regulación de la excreción de iones y agua. Además, el SNS y muchos agentes humorales vasoactivos participan también en la regulación de la función renal, al ser responsables indirectos de la acción del riñón en la regulación de la PA (Lahera *et al.* 2010).

2.1.3 Sistema renina-angiotensina-aldosterona

El sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) es uno de los mecanismos hormonales más importantes del control de la estabilidad hemodinámica, mediante la regulación de la presión arterial, el volumen de líquidos y el equilibrio sodio-potasio (te Riet *et al.* 2015).

Es el principal regulador de la presión a largo plazo. Su mecanismo de acción sobre la presión arterial es concambio de volumen sanguíneo. Este mecanismo se activa cada vez que hay un descenso de la presión arterial (Guyton y Hall, 2016; Abdel-Ghafar, 2020).

Cada vez que la presión arterial baja, las células yuxtaglomerulares de la pared arterial aferente del riñón activan la liberación de una gran cantidad de prorenina. Esta molécula una vez que es liberada se convierte en renina. La mayor parte de la renina va por la circulación general del organismo, aunque una pequeña parte se queda en los riñones desencadenando reacciones locales (Fox, 2011; Guyton y Hall, 2016).

La renina actúa sobre una globulina llamada sustrato de renina o angiotensinógeno, la cual se sintetiza y libera en el hígado. Liberando un péptido conocido como angiotensina I. La angiotensina I es un vasoconstrictor débil, que no tiene gran importancia para la regulación de la presión. La angiotensina I, es catalizada por la enzima convertidora de angiotensina (ECA), la cual es producida principalmente por el endotelio de los vasos pulmonares y en menor cantidad por el riñón y endotelio vascular. Esta hidrólisis genera la angiotensina II. La angiotensina II es un vasoconstrictor muy poderoso, pero solo dura en la sangre de 1-2 minutos, ya que es inactivada por varias enzimas sanguíneas conocidas como angiotensinasas (Guyton y Hall, 2016; Abdel-Ghafar, 2020).

Algunas angiotensinas convierten la angiotensina II en angiotensina III, el cual tiene un papel limitado en la liberación de aldosterona por la glándula suprarrenal. La angiotensina II durante la poca permanencia que tiene en la sangre, cumple dos efectos muy importantes:

- Genera la vasoconstricción de las arteriolas, con lo cual aumenta la resistencia periférica y el aumento de la presión arterial. Además, la vasoconstricción se da en las venas, aunque no tiene un efecto tan fuerte como en las arteriolas. Con la contracción de las venas, se genera un aumento del retorno venoso, lo cual aumentará el gasto cardíaco y por ende la presión arterial (Abdel-Ghafar, 2020).
- La angiotensina II además tiene un efecto de retención de sodio y agua, disminuyendo la orina y aumentando el volumen sanguíneo. Este efecto de aumento del volumen sanguíneo eleva lentamente la presión arterial, en un plazo de horas a días. Este mecanismo de aumentar el volumen sanguíneo tiene un efecto más importante que la vasoconstricción aguda de las arteriolas al momento de normalizar la presión arterial (Abdel-Ghafar, 2020).

2.1.4 Mecanismos de hipertensión por exceso de sodio

El exceso de sodio ingerido, se absorbe rápidamente en el intestino, determinando un aumento de la osmolaridad plasmática. Ésta estimula la sensación de sed y el consumo de agua con la consiguiente expansión del volumen intravascular. Para compensar y controlar este aumento del volumen, los riñones responden eliminando la sobrecarga de sodio y agua. En 1963, Borst y Borst-de Geus postularon la hipertensión arterial como parte de un mecanismo homeostático necesario para aumentar la excreción renal de sodio. Un gran avance para la comprensión de este fenómeno lo estableció Guyton y colaboradores en 1972, quien sugirió un defecto patológico renal que impide la eliminación de todo el sodio ingerido. Para lograr eliminar el exceso, la presión arterial debe aumentar con el fin de incrementar la presión de filtración en los glomérulos y de esta manera, aumentar la carga filtrada y la excreción urinaria de sodio. En condiciones normales existe un balance entre la presión de perfusión renal (aprox. 100 mm Hg) y la eliminación urinaria de sodio (aprox. 100-120 mEq). Este equilibrio se rompe, al asociar

un consumo exagerado de sodio con diferentes factores que afectan la integridad anatómica y funcional renal, apareciendo hipertensión (Zehner, 2010).

Los mecanismos de hipertensión postulados por Guyton y otros, presuponen un daño renal intrínseco que dificulta la excreción urinaria de sodio. Los más importantes son los siguientes: disminución del número de nefronas y aumento del transporte tubular de sodio (Zehner, 2010).

La retención de sodio aumenta las concentraciones de dimetil L-arginina asimétrica, sustancia que inhibe potentemente la síntesis de óxido nítrico endotelial. Pequeños incrementos del sodio plasmático también elevan las concentraciones de este catión en el líquido cefalorraquídeo, desencadenando una hiperestimulación simpática y activación del sistema renina-angiotensina hipotalámico. El exceso de sodio y el déficit de potasio se potencian en el daño endotelial debido al reemplazo intracelular de potasio por sodio alterando la funcionalidad del endotelio. Todos estos efectos, son sin duda, parte de una agresión constante al endotelio vascular; inducen un aumento de la resistencia arterial periférica e hipertensión (Fujiwara *et al.* 2000; He *et al.* 2005; Zehner, 2010).

El organismo se defiende de la exagerada ingesta de sodio, aumentando su eliminación renal, por cierto, limitada, y almacenando el exceso en la piel, en el sistema linfático subcutáneo, en cartílagos y huesos. El sodio almacenado de esta forma, se encuentra unido a glucosaminoglicanos y, por lo tanto, no arrastra agua transformándose en sodio osmóticamente inactivo (Guyton y Hall, 2016; Zehner, 2010).

La angiotensina II aumenta la vasoconstricción renal, disminuye el flujo plasmático renal y aumenta las resistencias vasculares renales. Ejerce un efecto claro aumentando la reabsorción de sodio por medio de la aldosterona en los segmentos distales, y por medio de la estimulación del “feedback” túbulo glomerular y de la creación de una hemodinamia peritubular reabsortiva en los segmentos proximales. Por eso, aún escasos niveles elevados de Angiotensina II en relación con los niveles de la ingesta de sodio pueden alterar la curva presión-natriuresis y producir elevación de la presión arterial (Gu *et al.* 2012).

2.1.5 Complicaciones de la hipertensión

Si no se controla, la hipertensión puede provocar un infarto al miocardio, un ensanchamiento del corazón y, a la larga, una insuficiencia cardíaca. También puede provocar deficiencia renal, ceguera y deterioro cognitivo. Las consecuencias de la hipertensión para la salud se pueden agravar por otros factores que aumentan las probabilidades de sufrir infartos o accidentes cerebrovasculares. Entre ellos cabe citar el consumo de tabaco, una dieta no saludable, el uso nocivo del alcohol, la inactividad física y la exposición a un estrés permanente, así como la obesidad, el colesterol alto y la diabetes mellitus (OMS, 2020).

Las enfermedades crónicas como la hipertensión no sólo producen daño específico sobre el sistema que atacan, sino que pueden repercutir sobre otros órganos y sistemas, como se mencionó anteriormente. Los músculos esqueléticos pueden ser afectados por una variedad de enfermedades que tienen su origen en diversos sistemas del organismo y pueden verse involucrados en la perpetuación de mecanismos patológicos, o su lesión puede aumentar la discapacidad ocasionada por la enfermedad originaria (Gosker *et al.* 2000).

2.2 Músculo

Existen alrededor de 750 músculos que son controlados y coordinados en todo momento para permitir todo un repertorio de acciones dirigidas hacia el mundo externo, desde las más elementales, hasta las más complejas (López-Chicharro y Fernández-Vaquero, 2010).

El músculo puede considerarse como el “motor” del organismo, pues posee propiedades que al coordinarse le permite generar fuerza y movimiento (excitabilidad, contractibilidad, elasticidad, etc.). Esta coordinación les posibilita a los animales una relación con el exterior y, en la medida que puedan conseguirlo, adaptarse a él e incluso modificarlo (López-Chicharro y Fernández-Vaquero, 2010).

El tejido muscular representa alrededor del 40% de la masa corporal total y la actividad muscular es uno de los principales determinantes del metabolismo global tanto en estado basal como en estado activo. Existen tres tipos de músculo: esquelético, cardíaco y liso, cada uno con un papel fisiológico singular (Baynes y Dominiczak, 2014).

El músculo esquelético a menudo se llama músculo voluntario, porque su contracción está controlada de manera consciente. Los músculos tanto esqueléticos como cardíacos son estriados; tienen estriaciones que se extienden a través de la anchura de la célula muscular. Dichas estriaciones se producen por una disposición característica de proteínas contráctiles, y debido a esto los músculos cardíaco y esquelético tienen mecanismos de contracción similares. En cambio, el músculo liso no presenta estas estriaciones y forma parte de la pared de muchos órganos y de los vasos sanguíneos, teniendo un mecanismo de contracción diferente (Fox, 2011).

2.2.1 Músculo esquelético

2.2.1.1 Estructura general del músculo esquelético

El músculo esquelético es el responsable de la postura y de los movimientos, siendo esto posible mediante la transformación de energía química en energía mecánica o fuerza (López-Chicharro y Fernández-Vaquero, 2010).

Los músculos estriados esqueléticos están constituidos por células alargadas: las fibras musculares, misma que se organizan en fascículos y se unifican por medio de envolturas elásticas (Mekrami y Brignol, 2006; López-Chicharro y Fernández-Vaquero, 2010).

La membrana celular se le da el nombre de sarcolema, y al citoplasma de estas células musculares se les llama sarcoplasma. Las fibras musculares contienen muy escaso citosol, y una gran parte del sarcoplasma está habitado por unas estructuras denominadas miofibrillas. Estas miofibrillas son haces de proteínas elásticas y con capacidad contráctil. Las fibras musculares también poseen un amplio retículo sarcoplásmico, el cual se dispone de una forma muy particular alrededor de las

miofibrillas. Su función es concentrar y secuestrar los iones de calcio; y en esta cercana asociación con el retículo sarcoplásmico se encuentran los túbulos transversos o túbulos T. Los túbulos transversos son invaginaciones del sarcolema que penetran hacia el interior de la fibra muscular perpendicularmente a la superficie (López-Chicharro y Fernández-Vaquero, 2010; Fox, 2011).

Las cisternas del retículo sarcoplásmico se asocian con túbulos T formando una estructura conocida como *tríada* que es fundamental para la contracción muscular (Figura 1) (López-Chicharro y Fernández-Vaquero, 2010).

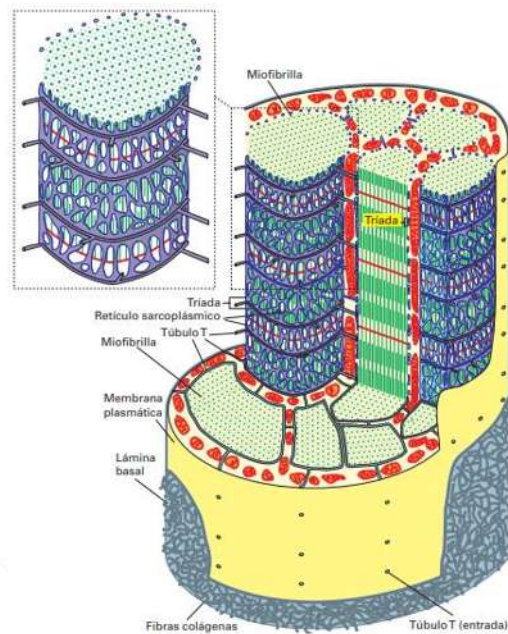


Figura 1. Disposición de los túbulos T y el retículo endoplásmico liso (retículo sarcoplásmico) en el músculo esquelético. (Modificada de <https://www.novella.mhhe.com>)

2.2.1.2 Miofibrillas

El sarcoplasma está ocupado principalmente por miofilamentos denominados miofibrillas, que se encuentran arreglados en sentido longitudinal. Al adosarse entre sí las miofibrillas, se superponen en bandas iguales, con lo que cada fibra adquiere una estriación

transversal. Si en el músculo se realizara un corte longitudinal, se observarían una serie de bandas oscuras alternando con bandas claras (Figura 2). Si dichas bandas se observaran a un microscopio con luz polarizada, las bandas oscuras son anisotrópicas y, por ende, se les llama *bandas A*, mientras que las claras son isotrópicas, y debido a ello su denominación de *bandas I*. Estas *bandas I* se acortan durante la contracción, mientras que la longitud de las *bandas A* permanece constante. En la mitad de una banda A se puede apreciar una línea transversa que se le da el nombre de *línea Z*. Y a la fracción de las miofibrillas situada entre dos líneas Z es a lo que se le llama sarcómero. Es importante resaltar que todos los cambios que suceden en el ciclo de relajación-contracción se describen en esta unidad funcional sarcómero (López-Chicharro y Fernández-Vaquero, 2010, Guyton y Hall, 2016)

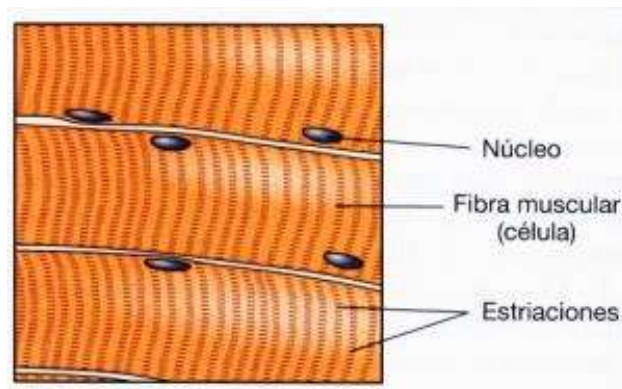


Figura 2. Aspecto de las células musculares estriadas. Se aprecian las bandas oscuras y claras (Modificada de López-Chicharro y Fernández-Vaquero, 2010).

2.2.1.3 Ultraestructura de la sarcómera

Las miofibrillas están compuestas de proteínas miofilamentosas, principalmente la actina y la miosina, que son las que forman la unidad contráctil, el sarcómero (Baynes y Dominiczak, 2014).

El sarcómero posee diversidad de elementos, como los discos Z, que son estructuras zigzag compuestas por proteínas de anclaje por los filamentos finos (actina). Cada extremo del sarcómero es un disco Z. Las bandas I representan la región que solo está ocupada por los filamentos finos. Las bandas A, corresponden a toda la longitud de

un filamento grueso (miosina). En los extremos de las bandas A, los filamentos gruesos y finos se encuentran solapados. Zona H, que corresponde a la porción central de la banda A que está ocupada únicamente por filamentos gruesos. Y las líneas M, que es la zona de inserción de los filamentos de miosina. Divide en dos partes iguales a la banda A (Figura 3) (López-Chicharro y Fernández-Vaquero, 2010).

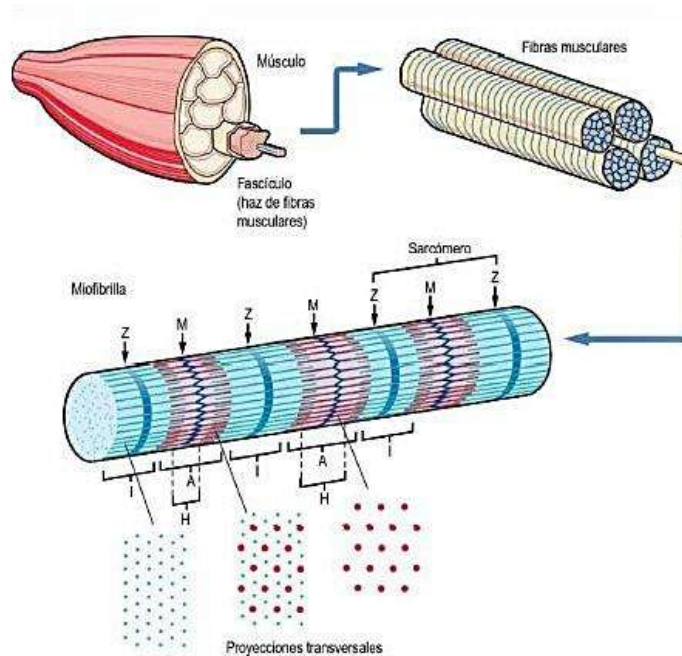


Figura 3. Estructura jerárquica del músculo esquelético. Vista desplegada de los fascículos, fibras musculares y miofibrillas, así como de las proteínas miofilamentosas. Ubicación de la banda I (filamentos que se extienden desde la línea Z) y la banda A (filamentos que se extienden desde la línea M), con tinción más oscura de las regiones de la banda A que corresponde a la región de solapamiento de los filamentos de actina y miosina (Modificado de Baynes y Dominiczak, 2014).

Cada filamento de actina se encuentra rodeado por tres filamentos de miosina, y seis filamentos finos rodean a un filamento grueso. Esta disposición de los filamentos del sarcómero se encuentra dominada por otro tipo de proteínas, que son las proteínas elásticas como la titina y la nebulina (López-Chicharro y Fernández-Vaquero, 2010).

2.2.1.4 Proteínas del sarcómero

2.2.1.4.1 Miosina

La miosina es una de las proteínas más grandes del cuerpo, con una masa molecular de aproximadamente 500 kDa, representando más de la mitad de la proteína muscular. Es el componente principal de cada filamento grueso en el músculo (Baynes y Dominiczak, 2014). La interacción entre actina y miosina durante la contracción muscular depende de la concentración Ca^{2+} citoplasmática (Baynes y Dominiczak, 2014).

La miosina tiene una variedad de características que son sumamente esenciales para la contracción:

- Posee cabezas globulares que tienen sitios de unión para el ATP y sus productos de hidrólisis, ADP y fosfato (Pi).
- Estas cabezas globulares tienen una actividad ATPasa dependiente de Ca^{2+} .
- La miosina se une de forma reversible a la actina en función de las concentraciones de Ca^{2+} , ATP y ADP + Pi.
- La actividad ATPasa de la miosina, las interacciones miosina-actina y los cambios estructurales están integrados en el modelo de deslizamientos de filamentos de contracción muscular.
- El aumento de Ca^{2+} en el sarcoplasma y el descenso de ATP después de la muerte dan lugar a una fuerte unión entre la miosina y la actina, formando el tejido muscular rígido (Baynes y Domoniczak, 2014).

2.2.1.4.2 Actina

A la actina la conforman subunidades de 42 kDa conocida como actina G (globular), que polimerizan en una forma filamentosa (actina F). La actina F es el principal componente del filamento fino e interacciona con la miosina en el complejo acto-miosina. Las cadenas de actina F se extienden en direcciones opuestas desde la línea Z, superponiéndose con las cadenas de miosina que se extienden desde la línea M (Bynes y Dominiczak, 2014).

2.2.1.4.3 Troponinas y tropomiosina

Ambas proteínas se encuentran en los filamentos finos, asociadas a la actina (López-Chicharro y Fernández-Vaquero, 2010). Las troponinas y las tropomiosinas modulan la interacción entre actina y miosina (Baynes y Dominiczak, 2014). La tropomiosina es una proteína fibrosa alargada que rodea en espiral a los filamentos de actina cubriendo los puntos de unión de la actina con la miosina cuando el músculo se encuentra en estado de reposo (López-Chicharro y Fernández-Vaquero, 2010).

Un complejo de troponinas se une a la tropomiosina: Tn-T (de unión a tropomiosina), Tn-C (de unión a calcio) y Tn-I (subunidad inhibidora). La unión de calcio a la Tn-C, una proteína de tipo calmodulina, somete cambios en a Tn-I, que altera la interacción entre tropomiosina y actina, exponiendo el sitio de unión a la miosina en la actina F y permitiendo acciones de actina-miosina (Baynes y Dominiczak, 2014).

2.2.1.4.4 Titina

La titina es la proteína más grande que se encuentra en el cuerpo humano, con más de 34,000 aminoácidos y una masa de unos 3,800 kDa. Desde un punto de vista estructural, la titina se extiende hasta la mitad de la longitud del sarcómero, con su extremo N-terminal anclado en la línea Z, y su extremo C-terminal al filamento grueso en la línea M (Baynes y Dominiczak, 2014). Tiene varias funciones: estabilizar la posición de los elementos contráctiles, y, gracias su elasticidad, recuperar la longitud del músculo durante la relajación o el reposo. También contribuye de manera importante a la generación a la generación de tensión pasiva del músculo (López-Chicharro y Fernández-Vaquero, 2010, Fox, 2011).

2.2.1.5 Clasificación de las fibras musculares

Todos los músculos del cuerpo están formados por una mezcla de denominadas fibras musculares *rápidas* y *lentas*, con otras fibras intermedias entre estos dos extremos. Los

músculos que reaccionan rápidamente están formados principalmente por fibras “rápidas”, y solo tienen pequeñas cantidades de variedad lenta. Por el contrario, los músculos como el sóleo responden lentamente, pero con una contracción prolongada están formados principalmente por fibras “lentas” (Guyton y Hall, 2016).

Los distintos tipos de fibras presentan diferentes isoformas de miosina y velocidad de contracción, pero también se diferencian en diversos aspectos, como su metabolismo, capacidad de almacenamiento de Ca^{2+} , etc. (López-Chicharro y Fernández Vaquero, 2010). Así, en el género humano se reconocen tres tipos de fibras musculares según sus propiedades estructurales, contráctiles y bioquímicas. Estas fibras se denominan tipo I (fibras oxidativas lentas, SO), tipo IIa (fibras rápidas glucolíticas oxidativas, FOG), y tipo IIx (fibras glucolíticas rápidas, FG) (Maclaren y Morton, 2012).

2.2.1.5.1 Fibras de tipo I

Las fibras de tipo I son fibras oxidativas de contracción lenta debido a que la isoforma de la miosina ATPasa que está presente en ellas hidroliza ATP a una velocidad relativamente lenta. Consecuentemente, las contracciones se dan a un ritmo lento, la fuerza máxima que se produce es pequeña en comparación con las fibras de tipo II y su producción de ATP se apoya primordialmente en el metabolismo oxidativo de los carbohidratos y las grasas (Maclaren y Morton, 2012).

Las fibras oxidativas lentas son delgadas, tienen muchas mitocondrias e irrigación y una gran cantidad de mioglobina, una globulina que contiene hierro y almacena oxígeno. Estas fibras que dependen del metabolismo oxidativo, son menos sensibles a la fatiga y están mejor adaptadas para la contracción (Bradley, 2014). En comparación con las fibras rápidas, tienen un sistema de vascularización extenso y más capilares para aportar cantidades adicionales de oxígeno (Guyton y Hall, 2016).

2.2.1.5.2 Fibras de tipo IIa

Las fibras de tipo IIa o fibras rápidas glucolíticas oxidativas, poseen una gran capacidad para la producción de ATP por medio de dos vías: metabolismo aeróbico y anaeróbico. La isoforma de la miosina ATPasa de estas fibras tiene la capacidad de hidrolizar ATP a un ritmo más rápido que las fibras de tipo I. También contienen una cantidad moderada de mioglobina y mitocondrias, lo que las hace en cierta medida resistentes a la fatiga (Maclaren y Morton, 2012).

2.2.1.5.3 Fibras de tipo IIx.

Las fibras de tipo IIx tienden a ser más gruesas, con más retículo sarcoplásmico que facilita la liberación rápida de iones de Ca^{2+} , y poseen menos mitocondrias e irrigación, ya que el metabolismo aeróbico es menos importante. Estas fibras tienen una alta sensibilidad a fatigarse, pero están muy bien adaptadas para el salto, la aceleración y otros movimientos fuertes y breves. Las fibras glucolíticas rápidas poseen tiempos cortos de contracción (Bradley, 2014).

Por lo general, la parte interior del músculo está formada por una mezcla de estos tres tipos de fibras musculares, cuya proporción varía de acuerdo con la función del músculo (Bradley, 2014).

2.2.1.6 Función del músculo esquelético

2.2.1.6.1 Contracción muscular

Se define como la activación de las fibras musculares con tendencia a que éstas se acorten. La fuerza generada por el músculo que se contrae se denomina tensión muscular; la carga es un peso o una fuerza que se opone a la contracción del músculo (López-Chicharro y Fernández-Vaquero, 2010).

2.2.1.6.2 Potencial de acción sobre el sarcolema

Las células del músculo esquelético tienen un potencial de reposo de la membrana, y la membrana de las células musculares puede despolarizarse por transmisión sináptica en la sinapsis neuromuscular. En esta sinapsis, la acetilcolina que es liberada por la neurona motora activa los receptores nicotínicos de acetilcolina del sarcolema de la célula muscular. La despolarización que resulta de esto es suficiente para abrir los canales de Na^+ dependientes del voltaje, para desencadenar un potencial de acción en la fibra muscular (Bradley, 2014).

Cuando es generado un potencial de acción próximo al centro de la fibra muscular, se extiende en ambas direcciones a lo largo de la fibra muscular por mecanismos que son muy similares a la transmisión del potencial de acción por los axones nerviosos no mielinizados. Al contrario que en estos, los potenciales de acción del sarcolema también se transmiten hacia el interior de la fibra muscular a través de los túbulos T, lo que permite su llegada al retículo sarcoplásmico. Los resultados de esto son fundamentales para el acoplamiento de la excitación (potencial de acción) con la contracción (acortamiento) de los sarcómeros de las miofibrillas (Bradley, 2014).

El aumento de Ca^{2+} en el citoplasma de la célula muscular es fundamental para iniciar el proceso de contracción. En reposo, los iones Ca^{2+} se bombean hacia el exterior del sarcoplasma, almacenándose en el retículo sarcoplásmico mediante una bomba dependiente de la energía junto con proteínas fijadores del Ca^{2+} . Esto ocasiona que la concentración de Ca^{2+} en el sarcoplasma sea demasiado baja para desencadenar una contracción. Sin embargo, cuando un potencial de acción se transmite a lo largo de la superficie de la fibra muscular y logra entrar en el centro de la fibra a través de los túbulos T (Bradley, 2014), provoca que el retículo sarcoplásmico libere grandes cantidades de iones de Ca^{2+} que se han almacenado en el interior de este retículo (Figura 4). Los iones de Ca^{2+} inician fuerzas de atracción entre los filamentos de actina y miosina, haciendo que se deslicen unos sobre otros en sentido longitudinal, desencadenando una contracción (Guyton y Hall, 2016). Cuando el potencial de acción ha sido transmitido, se bombea Ca^{2+} otra vez al retículo sarcoplásmico y se produce la relajación. A este ciclo se le conoce como *acoplamiento excitación-contracción* (Bradley, 2014).

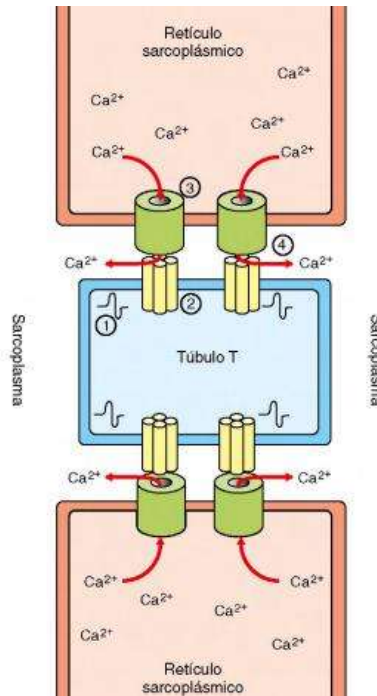


Figura 4. Relación entre los túbulos T y el retículo sarcoplásmico durante el acoplamiento excitación-contracción (Modificado de Boron y Boulpaep, 2005).

2.2.1.6.3 Teoría del filamento deslizando de la contracción.

Cuando un músculo se contrae, disminuye la longitud como resultado del acortamiento de sus fibras individuales. Este acortamiento de las fibras musculares se produce por el acortamiento de sus miofibrillas, que a su vez ocurre como resultado del acortamiento de la distancia de un disco Z a otro. Sin embargo, a medida que los sarcómeros se acortan, las bandas A no lo hacen, sino que se mueven hasta quedar más cerca una de otra (Fox, 2011).

Las bandas I disminuyen la longitud, pero los filamentos delgados que las componen no se acortan. La longitud de los filamentos gruesos y delgados no se modifica durante la contracción muscular. El acortamiento del sarcómero se produce por el deslizamiento de los filamentos delgados sobre los filamentos gruesos y entre estos últimos. En el proceso de contracción, los filamentos delgados de ambos lados de cada banda A se deslizan a una gran profundidad hacia el centro, lo que ocasiona la

superposición cada vez mayor con los filamentos gruesos. Así, las bandas I y las bandas H (que sólo contienen filamentos delgados y filamentos gruesos, respectivamente) se acortan durante la contracción (Figura 5) (Fox, 2011).

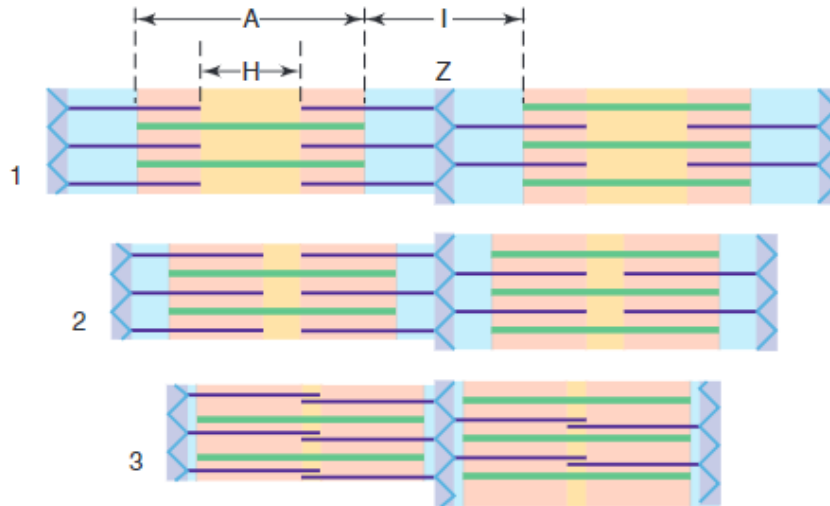


Figura 5. Modelo de filamento deslizante de la contracción muscular. A medida que los filamentos se van deslizando, las líneas Z se van acercando y los sarcómeros se van acortando. 1) Músculo relajado; 2) músculo parcialmente contraído; 3) músculo contraído (Modificado de Fox, 2011).

2.2.1.6.4 Acoplamiento excitación-contracción: la señal de calcio

Anteriormente, se mencionó el ciclo de acoplamiento excitación-contracción, que hace refiere a los eventos que ocurren desde la generación del potencial de acción en el sarcolema hasta la salida de Ca^{2+} de las cisternas de los túbulos T hacia el sarcoplasma (Michael y Sircar, 2010).

El contenido de Ca^{2+} en el sarcoplasma normalmente es bajo, pero aumenta en respuesta a la estimulación neural. El retículo sarcoplásmico es rico en una proteína llamada *calsequestrina* que sirve de unión al Ca^{2+} y es el sitio de secuestro de calcio dentro de la célula. En el músculo estriado, la despolarización de túbulos T abre los canales de Ca^{2+} en el retículo sarcoplásmico. La entrada de Ca^{2+} en el sarcoplasma desencadena las interacciones actina-miosina y la actividad miosina-ATPasa, causando la contracción muscular (Baynes y Dominiczak, 2014).

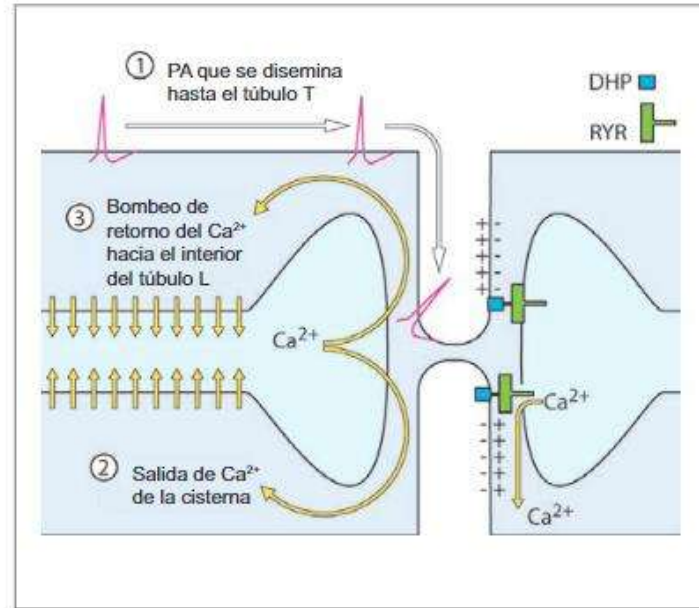


Figura 6. Acoplamiento excitación-contracción. En la parte superior del túbulo T se encuentra en estado de polarización y en la parte inferior en estado de despolarización. La despolarización del túbulo T desencadena la salida de calcio a partir de la cisterna lateral. Cuando el Ca²⁺ se une a su sitio de unión sobre troponina, se genera la contracción. PA, potencial de acción; DHP, receptor dihidropiridínico; RYR, receptor de la ryanodina (Modificado de Michael y Sircar, 2010).

Cuando el PA alcanza la punta del túbulo T, activa ciertos receptores controlador por voltaje que se denominan *receptores de dihidropiridinas* (DHP) que se encuentran localizado en la membrana del túbulo T. Estos DHP activados desencadenan la apertura de los canales de liberación de RYR (receptor de la ryanodina) de Ca²⁺, que se localizan en las cisternas terminales. Cuando un DHP se activa por el efecto de la despolarización del túbulo T, sufre un cambio de conformación, que tira del RYR y lo abre (Michael y Sircar, 2010).

El aumento de Ca²⁺ intracelular activa más enlaces cruzados y acorta el sarcómero por activación de la miosina ATPasa. Por tanto, concentraciones de Ca²⁺ mayores aumentan la fuerza contráctil muscular hasta que se alcanza la saturación. Mientras que la contracción muscular se desencadena por un aumento de Ca²⁺, la relajación muscular depende de que el Ca²⁺ sea bombeado de forma activa de nuevo hacia el retículo

sarcoplásmico. Con la reducción de las concentraciones de Ca^{2+} intracelular, el número de enlaces cruzados disminuye, así como la fuerza contráctil muscular (Baynes y Dominiczak, 2014).

2.3 Músculo esquelético durante la hipertensión arterial

La presión arterial está directamente asociada con el tamaño del cuerpo; sin embargo, la masa corporal total contiene dos factores que tienen efectos biológicos opuestos: tejido adiposo y masa magra. Los sujetos con hipertensión comúnmente experimentan deterioro funcional y discapacidad física, lo que puede causar una reducción en los factores inducidos por la contracción muscular que tiene efectos antiinflamatorios, conocidos como miocinas: la escasez relativa de miocinas se aumenta con el riesgo de trastornos cardiovasculares, tales como la hipertensión. Se ha observado también, una disminución de la capacidad muscular en las ratas espontáneamente hipertensas. Además, la baja masa muscular se ha asociado recientemente con la rigidez arterial y deterioro cognitivo y también un mayor riesgo cardiometabólico (Shu *et al.* 2019).

Existe evidencia de que la HTA, a su vez, se asocia con alteraciones vasculares, estructurales y funcionales que contribuyen a un suministro reducido de oxígeno para contraer el músculo esquelético. Durante las contracciones del músculo esquelético, la demanda de oxígeno aumenta notablemente, lo que requiere un aumento en el flujo sanguíneo y el suministro de oxígeno al tejido, esto se logra a través de un aumento de vasodilatadores formados localmente en el tejido muscular activo que superan las señales vasoconstrictoras. En la hipertensión la regulación del tono vascular se afecta con el consiguiente aumento de la resistencia vascular periférica. Esto puede conducir a la elevación de la presión arterial y una regulación alterada del suministro de oxígeno al músculo esquelético que puede afectar la función muscular (Nyberg *et al.* 2015).

Se han encontrado alteraciones en los músculos esqueléticos de seres humanos e igualmente en modelos de animales durante la hipertensión. En la hipertensión arterial hay una disfunción endotelial asociada a la presencia de citocinas proinflamatorias, con estrés oxidante y disminución de la biodisponibilidad de óxido nítrico (ON) que se

manifiestan en alteraciones de relajación vascular. Hay reportes de que el estrés oxidante en el músculo esquelético podría ser consecuencia de hipertensión arterial (Grossman, 2008; Hernández *et al.* 2011).

Se ha estudiado el efecto de una perfusión inadecuada de los vasos sanguíneos que irrigan en el músculo esquelético en ratas espontáneamente hipertensas, y se encontró el proceso inflamatorio en el músculo y el aumento del estrés oxidante. Esto podría comprometer la capacidad metabólica del tejido y reducir su rendimiento, transformando al músculo esquelético en un tejido propenso a la fatiga (Hernández *et al.* 2011).

La pérdida de masa muscular promueve la resistencia a la insulina, que es un factor de riesgo establecido para la hipertensión. Esto, a su vez puede potenciar las vías inflamatorias y oxidativas (Buckley *et al.* 2020).

Han *et al.* (2020) realizaron un gran estudio prospectivo de cohortes que demostró que una disminución de la masa muscular esquelética, medido por impedancia bioeléctrica, se asocia con un mayor riesgo de hipertensión incidente. No obstante, los mecanismos precisos que relacionan la hipertensión con un mayor riesgo de pérdida de masa muscular aún no se comprenden bien, aunque se han propuesto varias hipótesis que justifican una mayor investigación.

2.4 Estrés oxidante durante la hipertensión

El estrés oxidante se caracteriza por una producción excesiva de especies reactivas de oxígeno (ERO) y un estado alterado de oxidación-reducción (rédox). Estos eventos moleculares inducen oxidación de proteínas y la señalización celular desregulada, lo que conduce a inflamación, proliferación, apoptosis, migración y fibrosis, que como bien se sabe, son procesos importantes que contribuyen al deterioro de la función vascular, la remodelación cardiovascular, la disfunción renal, la activación de las células inmunes y a la excitación del sistema nervioso simpático durante la hipertensión (Touyz *et al.* 2020).

Las nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidasas (NOX) son la principal fuente de ERO en la pared vascular y se ha identificado que desempeñan un papel importante en la HTA. Las ERO dependientes de NOX pueden desencadenarse por numerosos factores neurohumorales procontráctiles, por ejemplo, angiotensina II, endotelina-1 y norepinefrina. La expresión y activación de las isoformas de la NOX aumentan en la hipertensión y son una causa probable de estrés oxidante en las células cardiovasculares, renales e inmunitarias en el daño de órganos diana asociado a la hipertensión. La xantina oxidasa (XO) es otra fuente de ERO en la pared vascular. Produce un desacoplamiento funcional de la eNOS y da lugar a la generación de ERO en lugar de NO y se ha sugerido que esta vía es importante para la HTA. El daño en la cadena respiratoria mitocondrial que ocurre durante la HTA, conduce a una disfunción de la respiración mitocondrial al aumentar la formación de ERO mitocondriales (Roe y Ren, 2011; Majzunova *et al.* 2013).

Junto con otras vías, las ERO disminuyen la biodisponibilidad de NO. Se sabe que la hipertensión se asocia con la disfunción endotelial y, por lo tanto, podría sugerirse que el deterioro de la vasodilatación dependiente del endotelio de la hipertensión es el resultado del estrés oxidante. Alternativamente, este desequilibrio redox puede ser el resultado de una reducción del potencial antioxidante del NO. En cualquiera de estos escenarios, el estrés oxidante parece jugar un papel importante en la hipertensión (Larsen y Matchkov, 2016).

Se cree que la disminución del NO puede implicar una serie de mecanismos diferentes, incluida una reducción de la NO sintasa endotelial (eNOS), un desacoplamiento de la actividad enzimática de la eNOS, la captación de NO por las ERO y la oxidación de las dianas de NO (Vanhuotte *et al.* 2009).

Los estudios experimentales de HTA proporcionan más evidencia de que el estrés oxidante juega un papel importante. Se ha encontrado un aumento del estrés oxidante en SHR, en SHR propensas a apoplejía, hipertensión por sal y ratas sensibles a la sal. Diferentes antioxidantes en estos estudios redujeron la presión arterial elevada, lo que indica un papel del estrés oxidante en la etiología de la HTA (Manning *et al.* 2005).

2.4.1 Estrés oxidante en el músculo esquelético durante la hipertensión

La actividad del SRAA aumenta en la hipertensión. ANG II es una molécula efectora del SRAA y juega un papel importante en el desarrollo y mantenimiento de la hipertensión mediante la constricción de los vasos a través de las células del músculo liso. Además, se sabe que este péptido activa las NADPH oxidasas, lo que desencadena la producción del superóxido y otras ERO en varios tejidos, incluido el músculo esquelético (Koba *et al.* 2012).

El desarrollo del estrés oxidante también se ha implicado en la HTA. El superóxido funciona en el proceso neuronal para codificar estímulos mecánicos y térmicos periféricos. Se ha informado previamente que el tratamiento con tempol, un compuesto permeable a la membrana que imita la actividad enzimática de la superóxido dismutasa (SOD), reduce las respuestas nerviosas simpáticas reflejas y presoras a la contracción del músculo esquelético en las extremidades traseras con insuficiencia cardíaca, una enfermedad cardiovascular que tiene niveles elevados de ERO y a menudo se desarrolla a partir de hipertensión prolongada (Koba *et al.* 2012).

Alternativamente, las diferencias en las fuentes y sitios de producción de ERO pueden afectar de manera diferente la señalización de NO. Las fuentes de ERO que se han implicado en el músculo esquelético incluyen a la cadena de transporte de electrones mitocondrial, la xantina oxidasa, la fosfolipasa A2, la lipoxigenasa, la ciclooxigenasa, el citocromo P450 y, más recientemente las NADPH oxidasas. Estos últimos se han localizado en el sarcolema, y según datos previos, muestran un aumento de gp91phox en el músculo de ratas con Ang II, esto parece indicar que pueden estar regulador por Ang II (Zhao *et al.* 2006)

La NADPH oxidasa puede estar muy cerca de la nNOS del sarcolema, proporcionando una localización espacial que puede favorecer la interacción entre el superóxido y el NO (Zhao *et al.* 2006).

2.5 Ejercicio

Se ha encontrado que el ejercicio es tan efectivo como la farmacología en la reducción de la mortalidad por todas las causas. Tradicionalmente, los beneficios del entrenamiento físico sobre la presión arterial se han relacionado con la remodelación del sistema cardiovascular (Buckley *et al.* 2020).

El ejercicio se ha documentado durante mucho tiempo para mejorar la presión arterial. Se ha demostrado que la modulación del sistema adrenérgico es un mecanismo crucial subyacente a los efectos beneficiosos del ejercicio en pacientes hipertensos. Otro mecanismo potencial es el aumento de la masa del músculo esquelético, que se ha demostrado que es modulada por la miostatina, un regulador negativo fundamental del crecimiento muscular. Estudios preclínicos han demostrado que el aumento de la masa muscular puede reducir la presión arterial, así como mejorar la tolerancia a la glucosa y la renoprotección, independientemente de los cambios en el peso corporal y/o la adiposidad (Shu *et al.* 2019).

Los resultados de Han *et al.* 2020, son prometedores para el concepto de ejercicio como medicina y sugieren que la intervención que conservan (o mejoran) la masa muscular puede ayudar a reducir la incidencia de la hipertensión y las complicaciones cardiovasculares (Buckley *et al.* 2020).

Se ha documentado que el entrenamiento mejora la función endotelial y las condiciones para la difusión de oxígeno en el músculo esquelético de sujetos hipertensos, y es probable que estas adaptaciones sean importantes para un mejor emparejamiento del flujo sanguíneo y el metabolismo oxidativo en el músculo durante el ejercicio (Nyberg *et al.* 2015).

Como se ha establecido, la actividad física regular puede mejorar la función vascular al mejorar el equilibrio entre los sistemas vasodilatador y vasoconstrictor; sin embargo, se necesitan más estudios para aclarar completamente los mecanismos subyacentes a este efecto benéfico de la actividad física. Además, ambos estados de enfermedad están asociados con un flujo sanguíneo reducido y suministro de oxígeno a la contracción del músculo esquelético. Este efecto de la hipertensión en la

hemodinámica podría ser un mecanismo importante subyacente a la tolerancia al ejercicio deteriorada en estos estados de enfermedad (Nyberg *et al.* 2015).

El ejercicio disminuye la grasa almacenada en el músculo, con lo que mecanismos que se han visto alterados durante la hipertensión, tales como la contracción muscular, además de aumentar la sensibilidad de las células a la insulina, para estimular el transporte de glucosa hacia el interior de la célula y aumentar la defensa antioxidante, y todos estos en conjunto, protegen al músculo contra la disfunción mitocondrial, disminuyendo las especies reactivas, mejorando la respiración y promoviendo la beta oxidación (Lambertucci *et al.* 2006).

La hipótesis sobre la importancia del desequilibrio rédox para la patología de la hipertensión sugiere que el estrés oxidante puede ser un posible objetivo y foco de intervención terapéutica en el tratamiento de la hipertensión. Se han sugerido varias estrategias terapéuticas diferentes, incluido el ejercicio físico. Se cree que los efectos benéficos del ejercicio en sujetos hipertensos están mediados por una mejora del estado rédox. Dado que se sabe que la HT está asociada con la disfunción endotelial, una característica temprana de las enfermedades vasculares en los seres humanos, se espera que las modificaciones del estilo de vida, incluido el ejercicio, prevenga complicaciones y sea una terapia no farmacológica eficaz para la prevención y el control de la hipertensión (Larsen y Matchkov, 2016).

Por otro lado, se ha identificado que el ejercicio induce la participación de los canales K_{ATP} para mejorar la función de las células musculares, así como el suministro de fármacos activadores de los K_{ATP} como el diazóxido (Kraljevic *et al.* 2015; Sánchez-Duarte *et al.* 2017).

2.6 Canales de K^+ sensibles a ATP

Los canales de potasio sensibles a ATP (K_{ATP}) acoplan el potencial de membrana sarcolemal y regulan el estado rédox mitocondrial, además juegan un papel importante en varias funciones celulares, tales como sensores de ATP y ADP intracelular (Hibino *et al.* 2010).

En el músculo esquelético se sugiere que estos canales se activan durante la fatiga y el estrés metabólico por lo que su función ha recibido gran importancia biomédica para algunas enfermedades tales como la diabetes, la isquemia cardiaca y neuronal y la fatiga muscular (Wasada, 2002). También incrementan el volumen mitocondrial, favorecen la contracción muscular y disminuyen la fatiga (Flagg *et al.* 2010).

A nivel molecular estos canales se componen de un receptor a sulfonilureas, la subunidad SUR, acopladas a un canal de potasio tipo rectificador entrante, la subunidad Kir (figura7). Por otro lado, Kir6.x consta de una disposición tetramérica de subunidades, cada una compuesta de 2 hélices transmembrana, una región formadora de poro, un amino terminal y un carboxilo terminal. SUR posee 17 regiones transmembrana agrupadas en 3 dominios transmembranales TMD0, TMD1 Y TMD2, cada unidad sur cuenta con dos dominios de unión a nucleótidos, NBD1 y NBD2 (Flagg *et al.* 2010).

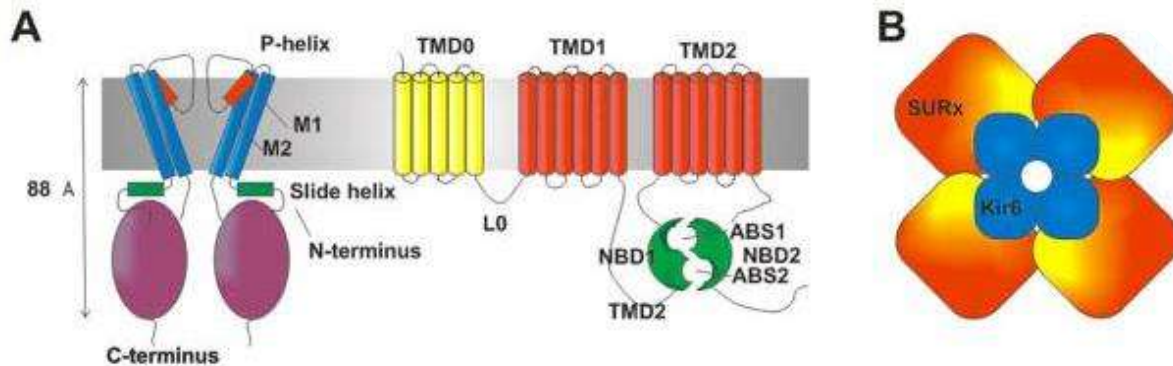


Figura 7. A) Los canales K_{ATP} se forman a partir de las subunidades Kir6 (izquierda) y SUR (derecha). Kir6 está conformada por una disposición tetramérica de subunidades, cada una formada por dos hélices transmembrana (M1, M2), una región de formación de poros (p-hélice y ajustador de selectividad) y el N-terminal citoplasmático y C-terminal. SUR consiste de las regiones TMD0 y L0 que interactúan con la apertura molecular de Kir6, seguida de dos regiones TM de 6 hélice adicionales, cada una seguida de un pliegue de unión a nucleótidos (NBF). Ambos pliegues de unión de nucleótidos se unen para generar dos sitios de interacción de nucleótidos en su interfaz. B) El canal K_{ATP} en una estructura octamérica con sus subunidades Kir6 y SUR (Modificado de Flagg, 2011).

Los canales de K_{ATP} se encuentran entre los canales de K^+ más densamente expresados en el sarcolema del músculo esquelético. Estudios recientes de ratones

genéticamente alterados revelan que tan importante es el papel mioprotector de K_{ATP} sarcolemal en la fisiología del músculo esquelético (Flagg, 2011).

Por otra parte, se sabe que la contracción y relajación de los músculos lisos vasculares están relacionadas con el potencial de membrana, que está críticamente determinado por la actividad del canal K_{ATP} y juega un papel importante en la regulación del tono vascular. Además, los abridores de canales dan como resultado una disminución de la presión arterial (Liu *et al.* 2016)

Los canales K_{ATP} actúan como sensores metabólicos importantes y se dirigen a la respuesta de los músculos lisos vasculares a una serie de vasodilatadores farmacológicos y endógenos: adenosina, prostaciclina, agonista de los receptores adrenérgicos α , NO, neurotransmisores, péptido relacionado con el gen de calcitonina, péptido intestinal vasoactivo, angiotensina II, vasopresina, noradrenalina, serotonina, entre otros. Por tanto, es probable que participen el proceso de hipertensión (Liu *et al.* 2016).

2.7 Diazóxido

Farmacológicamente, estos canales K_{ATP} pueden activarse (abrirse con agonistas del canal) o inhibirse (cerrarse con antagonistas del canal). Una variedad de activadores del canal de K_{ATP} se han utilizado para activarlo, incluyendo, al Diazóxido, Nicorandil, BMS191095, Cromakalim, Levcromakalim, EMD60480, EMD57970, Pinacidil, RP66471, Minoxidil, KRN2391. Sin embargo, de acuerdo con los hallazgos encontrados en células cardíacas y en mitocondrias aisladas, los compuestos más selectivos para los canales mito K_{ATP} son los activadores tales como el Diazóxido, el Nicorandil y el BMS-191095 que tienen una actividad muy baja sobre los canales del sarcolema (Costa y Garlid, 2008).

El Diazóxido es uno de los activadores de canal mito K_{ATP} más utilizado, activa al mito K_{ATP} con una potencia mil veces mayor que al canal K_{ATP} del sarcolema, aumentando así el tiempo para el desarrollo de contractura y mejorando la recuperación funcional (Costa y Garlid, 2008).

La activación de los canales K_{ATP} mejora la contracción muscular y favorece la resistencia a la fatiga, lo que reduce los niveles de radicales libres y especies reactivas de oxígeno, además de aumentar la defensa antioxidante (Mogthadei *et al.* 2012).

Por otra parte, el diazóxido además de ser un abridor del canal mito K_{ATP} es un vasodilatador, tiene efectos de cardioprotección y es un inhibidor de la secreción de insulina, lo que resulta benéfico para algunas patologías como la hipertensión (Alemzadeh *et al.* 2008).

3. JUSTIFICACIÓN

La hipertensión arterial es un trastorno que desencadena severos problemas de salud y que se ha relacionado con alteraciones en la vasculatura, a nivel estructural y funcional en el músculo esquelético, al comprometer su capacidad metabólica, aumentar el estrés oxidante y reducir su rendimiento. En este contexto, estudios previos han sugerido un papel importante de los canales K_{ATP} que favorecen la contracción muscular y disminuyen la fatiga, esto causa una disminución de los radicales libres y los niveles de especies reactivas de oxígeno, así como una restauración de la defensa antioxidante. El ejercicio es un tratamiento no farmacológico que estimula los canales K_{ATP} , mejora la función vascular y el metabolismo oxidativo en el músculo esquelético. Por otra parte, el diazóxido es un fármaco antihipertensivo que abre los canales K_{ATP} , y que, además, ha demostrado ser un tratamiento exitoso para reducir el estrés oxidante y mejorar la actividad antioxidante en músculo esquelético. De tal forma, es de nuestro interés analizar el efecto del diazóxido en combinación con el ejercicio sobre los efectos negativos que la hipertensión ejerce sobre el músculo esquelético.

4. HIPÓTESIS

El ejercicio de moderada intensidad y el diazóxido mejoran el funcionamiento del músculo esquelético al disminuir el estrés oxidante de ratas hipertensas.

5. OBJETIVOS

5.1 General

Determinar el efecto del diazóxido y el ejercicio de moderada intensidad sobre el funcionamiento del músculo esquelético de ratas hipertensas.

5.2 Específicos

- Evaluar el efecto del diazóxido y el ejercicio de moderada intensidad sobre la presión sistólica y diastólica, los niveles de glucemia y la sensibilidad a la insulina en ratas hipertensas.
- Determinar el efecto del diazóxido y el ejercicio de moderada intensidad sobre la generación de fuerza muscular y la resistencia a la fatiga en el músculo esquelético de ratas hipertensas.
- Analizar el efecto del diazóxido y el ejercicio de moderada intensidad sobre los marcadores de estrés oxidante en el músculo esquelético de ratas hipertensas.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Material biológico

Con la aprobación del Comité de Bioética y Bioseguridad del IIQB y siguiendo lo establecido por la NOM-062-ZOO-1999 para el cuidado y manejo de animales de laboratorio, se utilizaron ratas macho de aproximadamente 250 g, los cuales se mantuvieron en jaulas de polietileno en una habitación con temperatura controlada (24 °C), con un ciclo de luz/oscuridad de 12:12 h. Se alimentaron con dieta estándar y agua *Ad libitum*.

Los animales se dividieron en ocho grupos: control (C), hipertensos (H), diazóxido (D), ejercitados (E), hipertensos diazóxido (ED), hipertensos ejercitados (HE) e hipertensos diazóxido ejercitados (HDE). La dosis por administrar de diazóxido fue de 35 mg/kg vía intraperitoneal, diariamente durante 14 días. Para los grupos hipertensos, las ratas recibieron por vía oral NaCl 8% disuelto en agua durante 30 días para inducir la hipertensión. Las siguientes 8 semanas se suministró NaCl al 4% para mantener la patología (Jakovljevic *et al.* 2017). Los grupos ejercitados, fueron sometidos a un protocolo de ejercicio por un período de 5 semanas el cual se describe en la siguiente tabla.

Tabla 1. Protocolo de ejercicio de moderada intensidad (Gómez-Barroso *et al.* 2020).

| | |
|--------------------------|-----------------|
| 10 m/min x 10 min | 1 semana |
| 10 m/min x 10 min | 1 semana |
| 10 m/min x 10 min | 1 semana |
| 16 m/min x 5 min | |
| 10 m/min x 10 min | 1 semana |
| 16 m/min x 5 min | |
| 10 m/min x 5 min | 2 semanas |
| 16 m/min x 5 min | |
| 22 m/min x 5 min | |
| 10 m/min x 5 min | 2 semanas |
| 16 m/min x 5 min | |
| 22 m/min x 10 min | |

6.2 Presión sanguínea

La presión sanguínea se midió en animales conscientes mediante un método no invasivo (tail-cuff) usando un monitor CODA (Kent Scientific, Torrington, CT, USA). Las ratas se colocaron en un soporte 5 min antes de las determinaciones y se realizaron tres registros

de presiones sistólicas y diastólicas para cada animal cada dos semanas durante todo el tratamiento. Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

6.3 Biomarcadores metabólicos

A los grupos se les monitoreó el peso y la glucosa basal (en ayuno) utilizando una báscula y un glucómetro Accu Check Perfoma® respectivamente, una vez por semana durante las semanas de duración del protocolo experimental.

6.4 Prueba de tolerancia a la insulina

Una vez terminados los protocolos de experimentación, 15 h después, a las ratas se les suministró una dosis de insulina de acción rápida regular (0.75 U/kg de peso corporal), esto enseguida de tomar una muestra de glucosa en ayuno. Las concentraciones de glucosa en sangre se midieron a partir de la línea base (antes de la administración de insulina t=0 min), eventualmente los niveles de glucosa en sangre se midieron en los 30 min (0.5 h), 60 min (1 h), 90 min (1.5 h) y 120 min (2 h) posterior a la inyección.

6.5 Disección del tejido

Al día siguiente de realizar la prueba de tolerancia a la insulina, las ratas se sacrificaron por decapitación. El músculo Extensor Digitorio Largo (EDL) y el músculo Sóleo se diseccionaron y se obtuvieron de ambas extremidades traseras. Los músculos de una de las extremidades fueron colocados y fijados con alfileres entomológicos en una caja de Petri revestida con fondo de resina transparente, esta fue previamente llenada con solución fisiológica Krebs-Ringer (118 mM NaCl, 4.75 mM KCl, 1.18 mM MgSO₄, 24.8 mM NaHCO₃, 1.18 mM KH₂PO₄; pH 7.4) más una adición de 10 mM C₆H₁₂O₆ y 24.8 mM NaHCO₃, también se suministró gas carbógeno (95 % de O₂ y 5 % CO₂) constante y con la ayuda de un microscopio estereoscópico se efectuó la limpieza de los músculos

montados para retirar el excedente de tejido conectivo y de tejido graso adherido al músculo al realizar la disección, para finalmente poder ser llevado a registro de tensión. Por otro lado, los músculos de la otra extremidad trasera se almacenaron en solución fisiológica Krebs-Ringer en ultracongelación (-80 °C). Después de preservar el tejido, se procedió a realizar un homogeneizado para las correspondientes pruebas bioquímicas.

6.6 Registro de tensión

En una cámara de registro de tensión isométrica, el músculo fue montado a través de sus tendones, uno de los tendones fue enganchado a un gancho de transductor óptico (Word precisión Instruments, USA), el segundo tendón se sujetó al fondo de la cámara, una vez montado el músculo se ajustó y se dio tensión a las fibras musculares 1.3 veces su longitud en reposo, en todo momento el músculo estuvo inmerso en solución fisiológica Krebs-Ringer adicionada con glucosa y bicarbonato, esta solución estuvo en constante movimiento en el sistema, y también, el tejido recibió gas carbógeno constante. Dentro de la cámara de registro, se colocaron dos electrodos de platino-iridio directamente dentro de la solución en donde se encontró sumergido el músculo, pero sin hacer contacto directo con el músculo, los cuales se conectaron a una unidad aisladora de estímulos y un estimulador eléctrico (Grass. USA), para la inducción de fatiga, iniciada 10 min después de la colocación del músculo.

A su vez, el transductor se encontró conectado a un amplificador y una interface analógico digital (Word precision Instruments, USA) que permitió adquirir la tensión generada por cada músculo en una computadora, mediante el software MDAC (Word precisión Instruments, USA).

El protocolo de fatiga en músculo esquelético fue inducido mediante estimulación eléctrica repetitiva. Este se aplicó en músculo EDL mediante sacudidas con pulsos 100 V, 300 ms de duración y una frecuencia de 50 Hz; y en músculo Sóleo con pulsos 100 V, 300 ms de duración y una frecuencia de 45 Hz mediante la unidad aisladora de estímulos el estimulador (Grass, USA).

El tejido se estimuló hasta que la tensión disminuya un 60-70 % aproximadamente respecto a la tensión inicial y se midió el tiempo en el que se llegó a la fatiga muscular. Terminada la estimulación de los músculos en post-fatiga, estos se guardaron en microtubos con solución Krebs-Ringer a ultracongelación a -80 °C.

6.7 Análisis de marcadores de estrés oxidante

6.7.1 Medición de los niveles de especies reactivas de oxígeno

Los niveles de ERO se determinaron a través de la oxidación del cromóforo fluorescente 2',7'-diclorohidrofluoresceína diacetato (H₂DCFDA). Se colocaron en tubos de ensayo muestras de homogenados de cada uno de los músculos (0.5 mg/dL). La muestra se incubó a 4 °C en agitación constante durante 15 min en el buffer correspondiente (10 mM HEPES, 100 mM KCl, 3 mM MgCl₂ y 3 mM KH₂PO₄ a un pH de 7.4) con 1.25 mM de H₂DCFDA para un volumen total de 2 ml. Esta suspensión se distribuyó en una celda de cuarzo y se registró una primera lectura y 60 min después, una segunda medición de los cambios en la fluorescencia (Ortiz-Avila *et al.* 2013) en un espectrofluorómetro Shimadzu RF-5301PC (λ ex 485 nm; λ em 520 nm). La media de los datos obtenidos se expresó como delta fluorescencia (ΔF) en unidades arbitrarias.

6.7.2 Glutación

Se colocaron en tubos Eppendorf muestras de homogenados de cada músculo (0.5 mg/ml) a las cuales se les midió previamente su contenido proteico mediante el método de Biuret (Gornall *et al.* 1949). Las muestras fueron tratadas con ácido sulfosalicílico al 5% (v/v) y llevadas dos veces a congelación y descongelación, esto con la finalidad de desnaturalizar las proteínas, posteriormente se centrifugaron a 10 000 rpm por 5 min para remover las proteínas desnaturalizadas.

El glutación total (GSH + GSSG) y el glutación oxidado (GSSG) se determinaron por método enzimático. El contenido de glutación total se determinó colocando en una celda 90 μ l del sobrenadante contenido en los Eppendorf previamente centrifugados, también se agregó buffer de fosfatos (K₂HPO₄ 0.1M pH 7.5), 5,5'-ditiobis (ácido 2-

nitrobenzoico) 3mM - DTNB y 0.115 u/ml de glutatión reductasa en un volumen final de 1 ml. Después de 5 min de incubación a temperatura ambiente, se le añadió NADPH 2 mM y la cinética de la reacción fue monitoreada por 15 min. El incremento de la absorbancia a 412 nm fue convertida a concentración de GSH usando una curva estándar con valores conocidos de GSH (Akerboom y Sies, 1981).

Para la determinación del GSSG, el mismo ensayo de reciclaje de DNTB fue aplicado después de usar 4- vinilpiridina al 3% (v/v) para remover el GSH reducido, seguido de una incubación de 1 h a temperatura ambiente antes de empezar el ensayo (Ortíz-Ávila *et al.* 2015). El glutatión reducido (GSH) se determinó restando el glutatión oxidado del glutatión total. Los datos se expresaron como $\mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína.

6.7.4 Medición de la actividad de la enzima catalasa

La actividad de la enzima catalasa se analizó midiendo la conversión del peróxido de hidrógeno con un electrodo de oxígeno tipo Clark conectado a un monitor de oxígeno biológico (53000A Biological Oxygen Monitor, YSI, USA), de acuerdo con un método reportado con anterioridad (Jeulin *et al.* 1989). Al iniciar el experimento, el electrodo se calibró en H_2O_2 a una temperatura de 25 °C. Se suspendió 0.5 mg/ml de proteína de los homogenados del tejido del músculo esquelético en tampón fosfato 0.1 M (pH 7.4) en agitación moderada constante y se monitoreó durante 3 min. La presión del oxígeno se registró continuamente y la actividad catalítica se expresó en mmol de oxígeno producido por minuto.

La pendiente de la curva se utilizó para cuantificar la actividad catalasa de la muestra. Cada medición se realizó tres veces y el resultado correspondió al valor medio. Los resultados obtenidos se interpolaron con la curva patrón de la enzima catalasa y se normalizaron de acuerdo con el contenido de la muestra (0.5 mg/ml) en un mismo intervalo de tiempo/voltaje. La reacción enzimática se expresó en U de actividad*mg de proteína.

6.8 Análisis estadísticos

Los resultados fueron expresados como la media \pm el error estándar de los tratamientos independientes usando muestras de distintos animales, y las diferencias estadísticas de los datos que se obtuvieron fueron determinadas por prueba T y ANOVA de una vía, con una prueba post-hoc Tukey en el software PRISMA (GraphPad software Inc., v. 6.0).

7. RESULTADOS

7.1 Establecimiento del protocolo experimental de la hipertensión en ratas Wistar con NaCl

Se evaluaron los niveles de presión arterial sistólica (figura 8) y los niveles de presión arterial diastólica (figura 9), para determinar el efecto que tiene el NaCl. Las mediciones se realizaron durante el período del tratamiento (4 semanas).

En la figura 8 se encuentra la presión a través del tiempo en semanas. Lo que se puede observar en el gráfico es que el grupo al que se le administró la solución con NaCl (149.5 ± 3.34 mm Hg), a partir de la segunda semana (131.20 ± 1.46 mm Hg) los niveles de presión arterial sistólica empezaron a aumentar gradualmente hasta tener un incremento significativo en la cuarta semana (181.80 ± 3.45 mm Hg) donde se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre este grupo y el grupo control (125.4 ± 1.28 mm Hg). En la figura 9 se muestran los niveles de presión arterial diastólica a través del tiempo del grupo control (86.68 ± 3.55 mm Hg) y del grupo hipertenso tratado con NaCl (109.9 ± 4.16 mm Hg) dónde se observó un comportamiento similar al del gráfico anterior. Con esto podemos determinar que el protocolo experimental de administración de NaCl al 8% fue exitoso para aumentar los niveles de presión arterial sanguínea e inducir la hipertensión arterial en ratas macho Wistar.

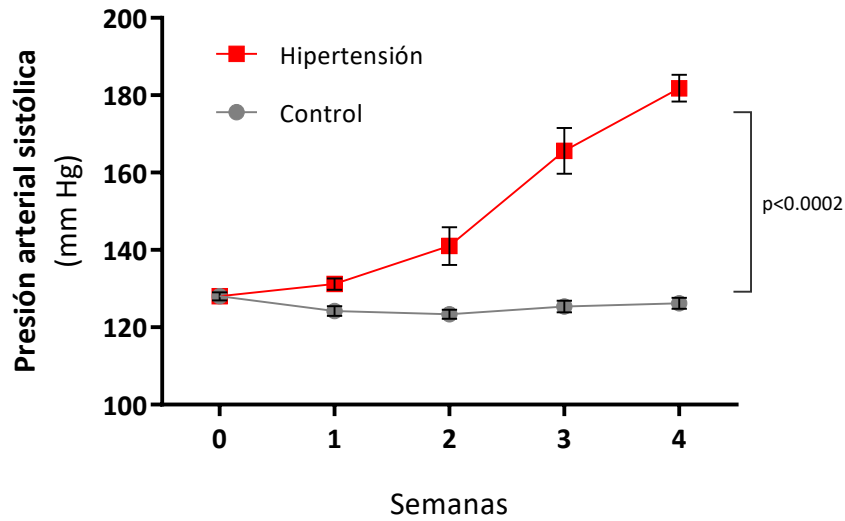


Figura 8. Presión arterial sistólica a través del tiempo. En esta figura se muestra la presión arterial sistólica (mm Hg) para cada grupo C=control e H=hipertenso. n=5; Los datos se presentan como la media \pm error estándar. Prueba T, $p < 0.05$.

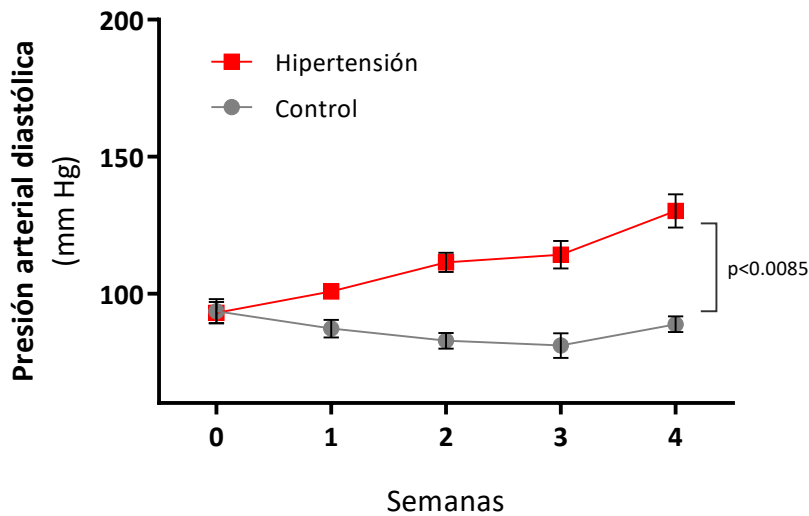


Figura 9. Presión arterial diastólica a través del tiempo. En esta figura se muestra la presión arterial diastólica (mm Hg) para cada grupo C=control e H=hipertenso. n=5; Los datos se presentan como la media \pm error estándar. Prueba T, $p < 0.05$.

7.2 Efecto del ejercicio y el diazóxido sobre la presión arterial sistólica y diastólica de ratas hipertensas

Se midieron los niveles de la presión arterial sistólica (figura 10) y diastólica (figura 11), para determinar el efecto que tienen el diazóxido y el ejercicio.

En la figura 10 se puede ver los resultados para la presión arterial sistólica al momento de la culminación de los protocolos. Aquí observamos que el grupo ya denominado como hipertenso (195.20 ± 5.43 mm Hg) presentó un claro aumento de la presión sanguínea. En el grupo hipertenso entrenado (171.20 ± 3.51 mm Hg) se observó una disminución de los niveles de presión sistólica en comparación con el grupo hipertenso, a su vez, los grupos hipertenso diazóxido (145.20 ± 3.51 mm Hg) e hipertenso diazóxido ejercicio (147.60 ± 5.70 mm Hg) mostraron niveles de presión arterial sistólica, incluso menores, que el hipertenso ejercitado. Por otro lado, en el la figura 11 se demuestra que los grupos control (88.80 ± 2.85 mm Hg), diazóxido (72.60 ± 5.67 mm Hg), ejercicio (88.40 ± 5.41 mm Hg) y ejercicio diazóxido (78.20 ± 5.83 mm Hg) no muestran diferencias estadísticas entre sí, caso contrario del grupo hipertenso (142.40 ± 5.83 mm Hg), que presenta niveles de presión arterial diastólica significativamente altos. En cambio, los tratamientos con ejercicio (119.40 ± 3.41 mm Hg), diazóxido (114.20 ± 4.43 mm Hg) y ejercicio + diazóxido (118 ± 5.10 mm Hg), en un estado hipertensivo, los resultados obtenidos demuestran que estos logran atenuar estos valores de presión arterial diastólica.

Lo observado indica que el tratamiento con diázoóxido y ejercicio, de manera individual y en conjunto, tienen un efecto hipotensor notable, al disminuir los niveles de presión arterial sistólica y diastólica que se encuentran elevados durante la hipertensión.

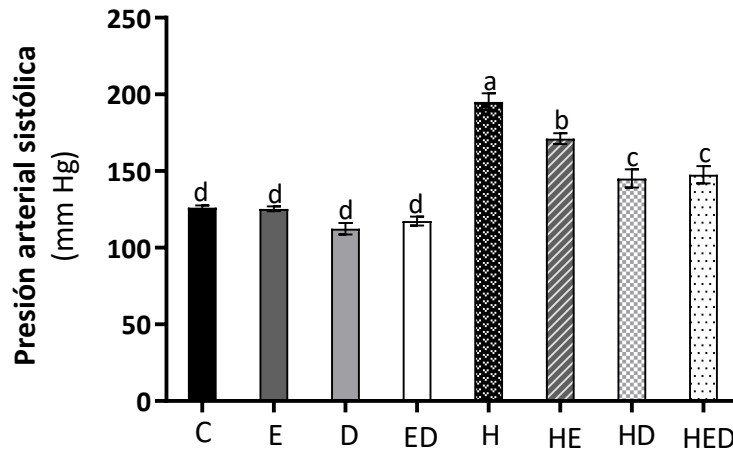


Figura 10. Presión arterial sistólica de los diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestra la presión arterial sistólica (mm Hg) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso + ejercicio, HD= hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido n=5; Los datos se presentan como la media \pm error estándar. (ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

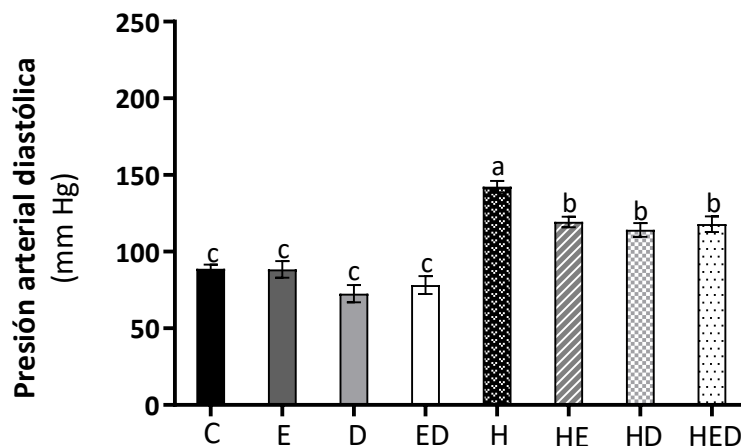


Figura 11. Presión arterial diastólica de los diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestra la presión arterial sistólica (mm Hg) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso + ejercicio, HD= hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido n=5; Los datos se presentan como la media \pm error estándar.

(ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

7.3 Efecto del ejercicio y diazóxido sobre el peso en ratas hipertensas

Se evaluaron los biomarcadores metabólicos tales como el peso corporal (figura 12) y los niveles de glucosa sanguínea en ayuno (figura 13), para determinar el efecto que tiene el diazóxido y el ejercicio en los diferentes grupos.

En la figura 12 se observó que los resultados obtenidos de las mediciones de peso corporal al final de los tratamientos no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos control (422 ± 16.55 g), ejercitado (458.60 ± 8.65 g), diazóxido (456 ± 6.78 g) y diazóxido ejercitado (456.40 ± 11.69 g). Por otro lado, se muestra una disminución en los valores de peso corporal en el grupo hipertenso (330.60 ± 28.95 g), sin embargo, en los grupos hipertenso ejercitado (407.80 ± 7.47 g) e hipertenso diazóxido ejercitado (407.80 ± 7.47 g), se restauran los niveles de peso corporal, aunque no se ve este efecto en el grupo hipertenso diazóxido (347.80 ± 11.24 g). Estos resultados nos demuestran que el ejercicio puede mejorar el peso corporal que se ve comprometido durante el estado patológico, al igual que el tratamiento combinado de ejercicio + diazóxido, pero el tratamiento de diazóxido por sí solo no muestra efectos favorables.

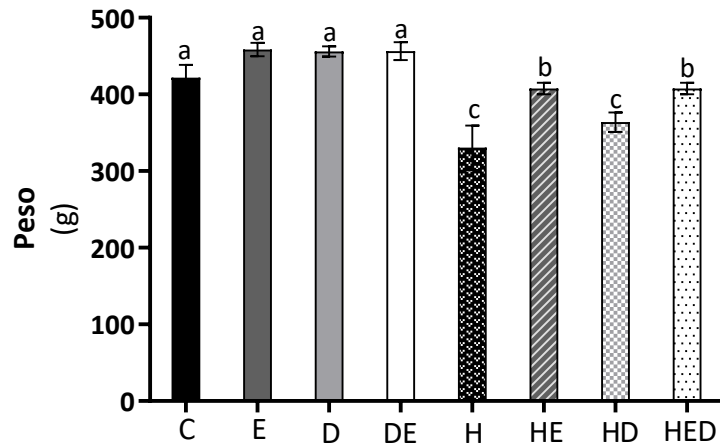


Figura 12. Peso corporal de los diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestra el peso corporal (g) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso + ejercicio, HD= hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido n=5; Los datos se presentan como la media \pm error estándar. (ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

7.4 Efecto del ejercicio y el diazóxido sobre la glucosa sanguínea en ayuno de ratas hipertensas

En la figura 13 se muestra la glucosa sanguínea en ayuno. Entre los grupos control (70 ± 3.24 mg/dL), ejercitado (71.40 ± 2.69 mg/dL) y ejercicio + diazóxido (69 ± 3.60 mg/dL) no se observan diferencias estadísticamente significativas. Cabe destacar que el grupo tratado con diazóxido (95.40 ± 3.07 mg/dL) sí presentó estas diferencias al tener sus niveles de glucosa aumentados. Por otro lado, se observó que el grupo hipertenso (86.80 ± 2.20 mg/dL) presenta diferencias contra el grupo control, pero a su vez también mostró diferencias estadísticas contra el grupo diazóxido. Por otro lado, se observó que con los tratamientos de diazóxido (80.80 ± 2.39 mg/dL) y ejercicio + diazóxido (77.80 ± 3.69 mg/dL) en un estado hipertensivo, no se muestran diferencias estadísticamente significativas contra el grupo hipertenso. A pesar de no tener resultados concluyentes, se aprecia una tendencia a la mejora de los niveles de glucosa, ya que disminuyeron en un 6.91% para el grupo diazóxido y en un 10.36% para el tratamiento combinado, esto respecto al grupo hipertenso, en un 15.30% y 18.44%, del grupo hipertenso diazóxido e hipertenso diazóxido ejercitado, respectivamente, en comparación con el grupo

diazóxido. En cambio, el grupo hipertenso ejercitado (71.20 ± 6.32 mg/dL) presentó una notable disminución de los niveles de glucosa en ayuno con un 17.97% respecto al grupo hipertenso. Estos resultados parecen indicarnos que como ya se ha reportado con anterioridad, el diazóxido inhibe la secreción de la insulina, pero este efecto parece no representar un problema cuando se somete a condiciones patológicas. A su vez, la hipertensión conlleva a un deterioro de la captación de glucosa, situación que parece demostrarse con nuestros resultados.

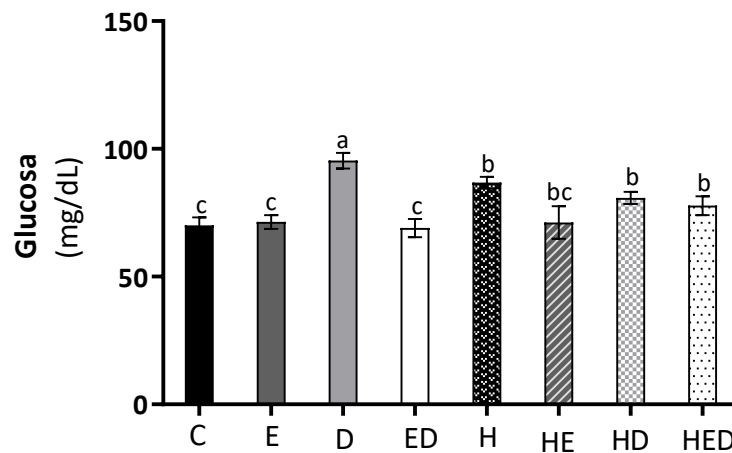


Figura 13. Glucosa sanguínea en ayuno de los diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestra la glucosa basal (mg/dL) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso + ejercicio, HD= hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido $n=5$; Los datos se presentan como la media \pm error estándar. (ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

7.5 Efecto del ejercicio y el diazóxido sobre la resistencia a la insulina de ratas hipertensas

Para corroborar si existe una resistencia a la insulina, se realizó la prueba de tolerancia a la insulina al final de los tratamientos, y los resultados obtenidos se muestran en el gráfico de la figura 14. En esta figura se aprecian los niveles de glucosa sanguínea a través del tiempo. A partir de los 30 min (70.40 ± 3.07 mg/dL) el grupo diazóxido no presentó diferencias significativas contra el tiempo 0 (81.20 ± 2.78 mg/dL). Esto indicó

que durante los primeros minutos existe un deterioro de la captación de la glucosa, situación que es establecida por el fármaco, pero esto llegó a normalizarse durante los siguientes períodos.

Para una mejor comprensión, con los resultados obtenidos de la glucemia durante la prueba de tolerancia a la insulina, se calculó el área bajo la curva (AUC) como expresión integrada de la concentración de glucosa. El AUC se muestra en la figura 15. Lo que se puede observar es que el grupo diazóxido (6324 ± 64.96 mg/dL/120 min) en comparación con el grupo control (4290 ± 35.17 mg/dL/120 min), aumentó significativamente, esto en función de los valores más altos de glucosa en sangre y por la resistencia a la insulina presentada en los primeros períodos de tiempo. Sin embargo, de acuerdo con los razonamientos que se han realizado con base en la evidencia, observamos que el diazóxido no generó resistencia a la insulina en estados hipertensivos, tal como se puede observar en el grupo hipertenso (4659 ± 430.10 mg/dL/120 min) así como en el grupo hipertenso ejercitado (3907 ± 884.87 mg/dL/120 min). Por otro lado, los grupos hipertenso diazóxido (4641 ± 161.10 mg/dL/120 min) e hipertenso ejercitado diazóxido (5056 ± 232.09 mg/dL/120 min). Por otro lado, cabe recalcar que el grupo hipertenso (4659 ± 430.10 mg/dL/120 min) presenta niveles aumentado de glucosa sanguínea en ayuno respecto al grupo control, pero no respecto al grupo hipertenso.

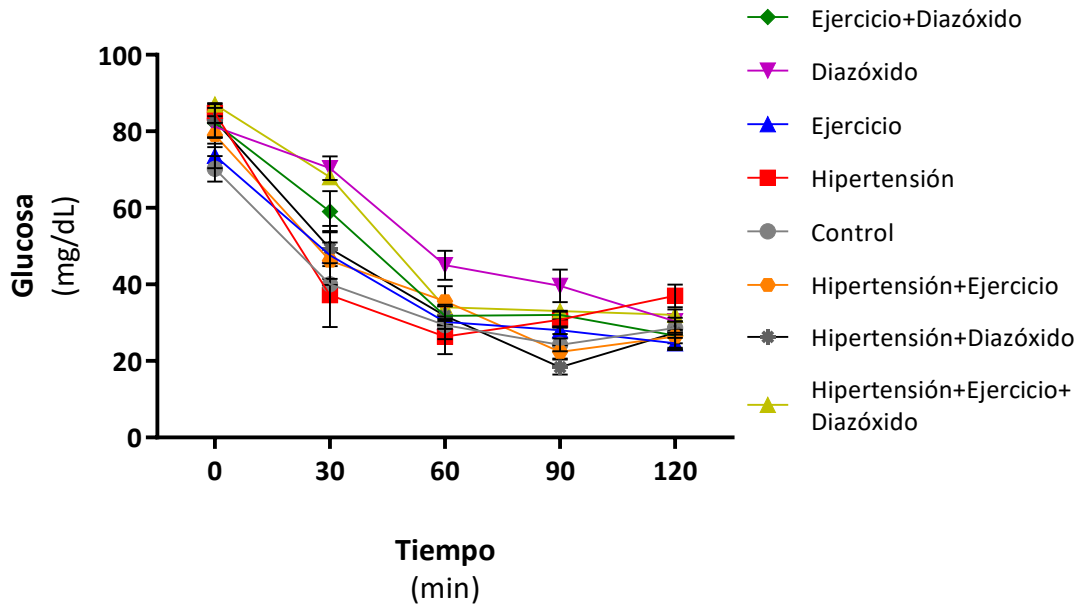


Figura 14. Niveles de glucosa de los diferentes grupos experimentales en la prueba de tolerancia a la insulina. En esta figura se muestran los niveles de glucosa (mg/dL) en varios períodos de tiempo (0, 30, 60, 90 y 120 min) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso + ejercicio, HD= hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido n=5; Los datos se presentan como la media \pm error estándar (ANOVA de 2 vías, Tukey prueba post-hoc. Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos y las diferentes letras (mayúsculas) indican las diferencias significativas entre los tiempos.

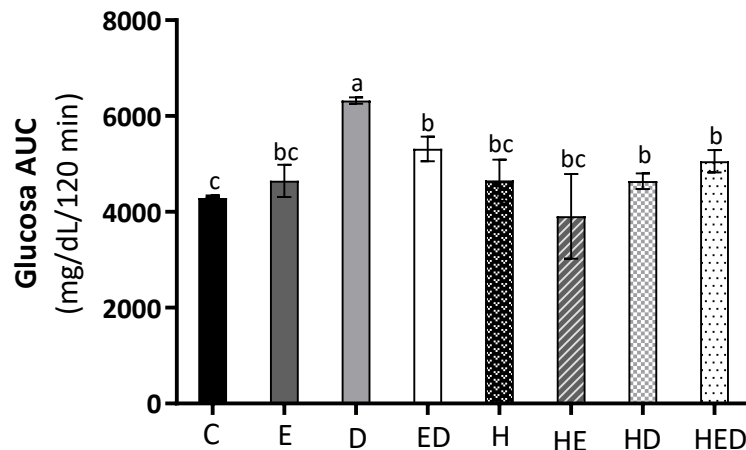


Figura 15. Área bajo la curva diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestra el área bajo la curva (mg/dL*min) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso + ejercicio, HD= hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio +

diazóxido $n=5$; Los datos se presentan como la media \pm error estándar. (ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

7.6 Efecto del diazóxido y ejercicio sobre la fuerza de contracción y la resistencia a la fatiga del músculo EDL y sóleo

Se determinaron la generación de fuerza muscular y la resistencia a la fatiga en el músculo EDL y sóleo de las ratas hipertensas para comprobar los efectos que tienen el diazóxido y el ejercicio. En la figura 16 se puede observar la tensión del músculo EDL medido en gramos de fuerza. Lo que se puede apreciar es que el grupo ejercitado tratado con diazóxido (460.10 ± 104.13 g) presentó una mayor fuerza de contracción en comparación con los otros grupos. También se puede puntualizar que los que los tratamientos individuales de ejercicio (313.84 ± 23.06 g) y diazóxido (341.62 ± 23.70 g) generaron una mayor fuerza comparados con el grupo control (228.07 ± 28.03 g). El grupo hipertenso (98.13 ± 11.67 g) presentó diferencias estadísticas en la fuerza de contracción en comparación con el grupo control, demostrando de esta manera que este modelo experimental de hipertensión repercute en la funcionalidad del músculo EDL. Podemos ver que con los tratamientos de diazóxido (277.02 ± 46.92 g) y ejercicio (234.14 ± 28.08 g), de manera individual y en un estado hipertensivo poseen un efecto benéfico sobre la fuerza de contracción, tanto en tensión máxima como en la tensión total. Hecha la observación anterior, es importante destacar que el protocolo de los tratamientos combinados (405.18 ± 35.44 g) potencia este efecto y mejora la contracción muscular de manera significativa. En la figura 17 se muestra la resistencia a la fatiga, donde se puede corroborar que el grupo hipertenso (61.75 ± 5.57 s) presentó una disminución del tiempo de resistencia a la fatiga muscular en comparación con el grupo control (126 ± 7.22 s). El grupo diazóxido (284.25 ± 31 s), el grupo ejercitado (275.50 ± 11.87 s) y el grupo ejercitado diazóxido (326.25 ± 21.34 g) presentan un mayor tiempo de resistencia a la fatiga comparado contra el grupo control. Por otro lado, los grupos con la patología y con los tratamientos de diazóxido (212.25 ± 20.25 s) y ejercicio (198.75 ± 32.68 s), muestran una mejora en el tiempo de resistencia a la fatiga. Pero cabe recalcar que el grupo

hipertenso tratado con diazóxido y ejercicio (262.25 ± 18.56 s) presentó una preeminencia incrementada.

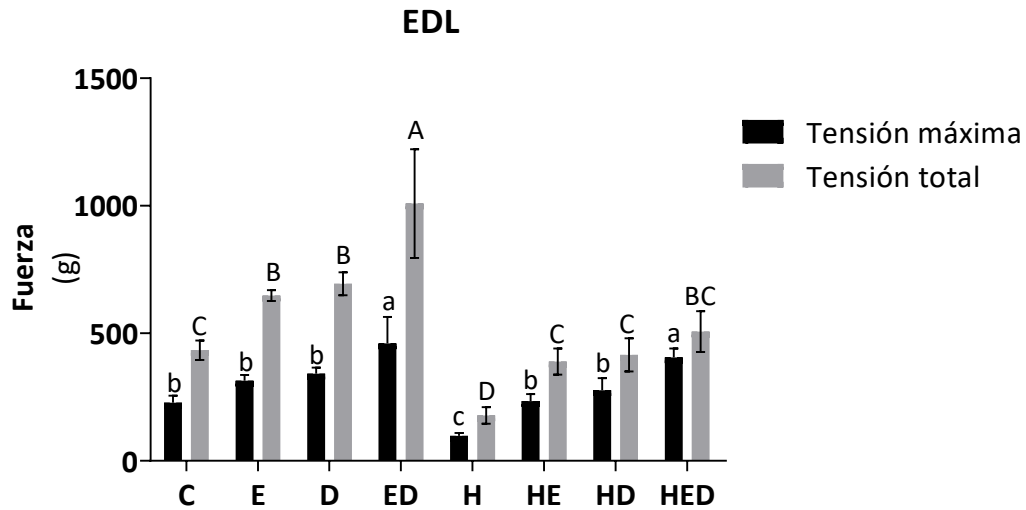


Figura 16. Fuerza de contracción del músculo EDL de los diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestra la fuerza de contracción muscular (g) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso + ejercicio, HD= hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido n=5; Los datos se presentan como la media \pm error estándar. (ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

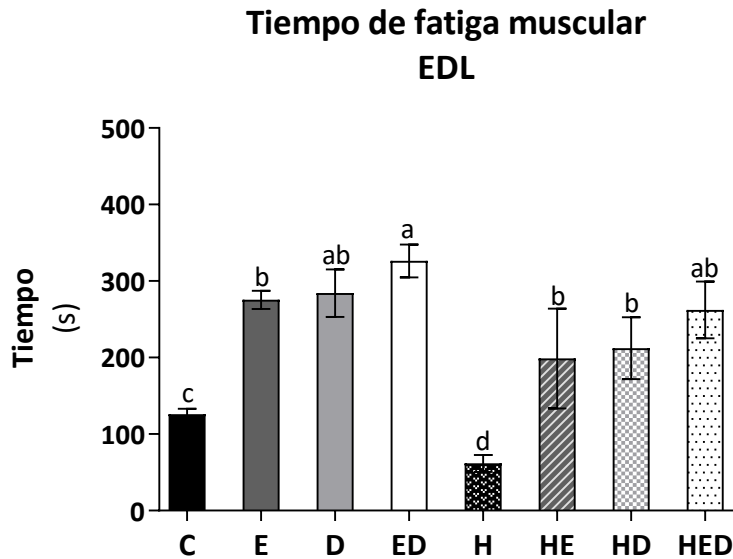


Figura 17. Tiempo de fatiga del músculo EDL de los diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestra el tiempo de fatiga muscular (s) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso + ejercicio, HD= hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido n=5; Los datos se presentan como la media \pm error estándar. (ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

En la figura 18 se observa la tensión del músculo sóleo. Se puede notar que el grupo hipertenso (61.56 ± 9.46 g) no presentó diferencias estadísticamente significativas contra el grupo control (109.52 ± 27.28 g), aunque si se aprecia una tendencia a la disminución de la fuerza de contracción muscular. Lo que podemos destacar a continuación es que los tratamientos diazóxido (171.03 ± 10.47 g) y ejercicio + diazóxido (191.17 ± 33.42 g) durante el estado patológico presentan una mayor contracción muscular en comparación con el grupo hipertenso. Podemos apreciar que en la figura 19 se cuantificó el tiempo de resistencia a la fatiga muscular y se destaca que el grupo de ratas hipertensas (83.75 ± 9.92 s) presentó una notable disminución de la resistencia a la fatiga en comparación con el grupo control (191.25 ± 10.49 s). Por otra parte, se demuestra que los grupos hipertenso diazóxido (149.50 ± 17.44 s) e hipertenso ejercitado (137.50 ± 21.74 s) a pesar de no tener diferencia estadísticamente significativa contra el grupo hipertenso, observamos una tendencia al aumento del tiempo de resistencia a la

fatiga, ya que tampoco muestra diferencias contra el grupo hipertenso ejercitado diazóxido (207.50 ± 36.82 s), que es el grupo que sí representa una diferencia significativa contra el grupo hipertenso. Con esto se demuestra que los protocolos son benéficos para mejorar la fuerza en el músculo esquelético y a su vez, mejorar el tiempo de resistencia a la fatiga.

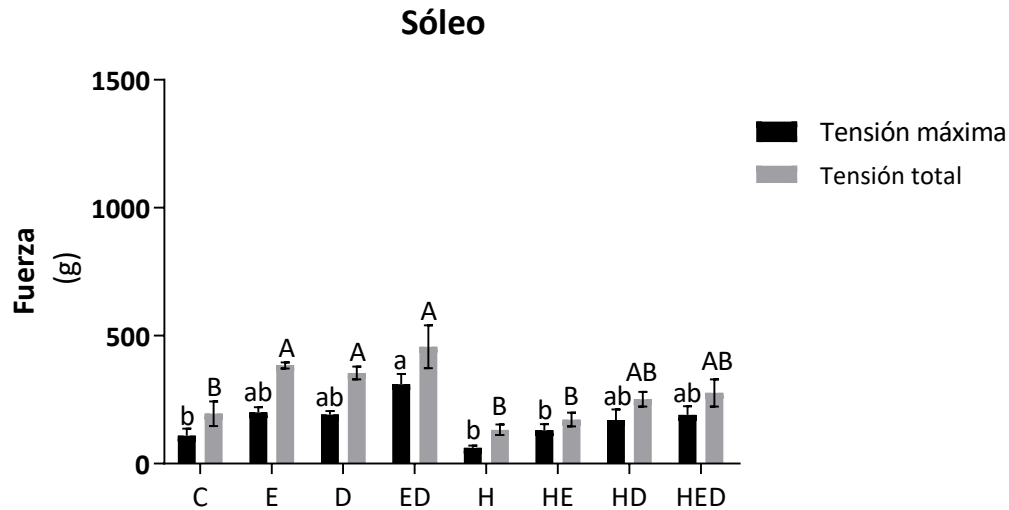


Figura 18. Fuerza de contracción del músculo sóleo de los diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestra la fuerza de contracción muscular (g) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso + ejercicio, HD= hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido n=5; Los datos se presentan como la media \pm error estándar. (ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

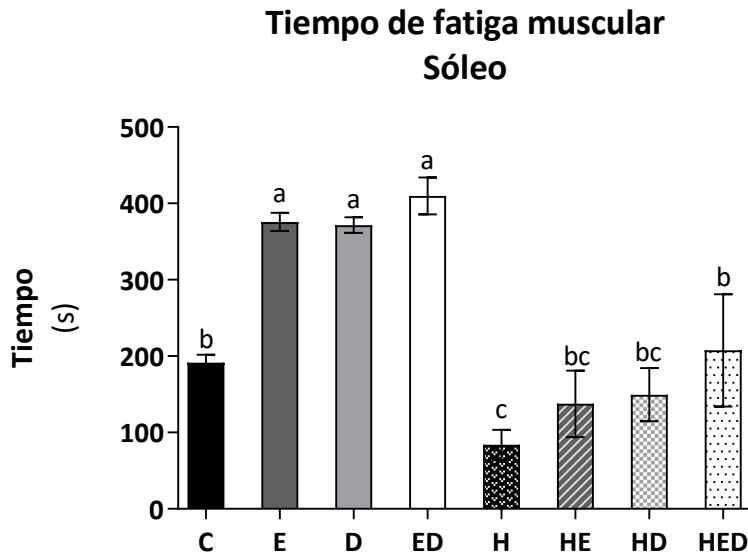


Figura 19. Tiempo de fatiga del músculo EDL de los diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestra el tiempo de fatiga muscular (s) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso + ejercicio, HD= hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido n=5; Los datos se presentan como la media \pm error estándar. (ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

7.7 Efecto del diazóxido y ejercicio sobre los niveles de las Especies Reactivas de Oxígeno en los músculos EDL y sóleo

Los resultados obtenidos para la determinación de ERO del músculo EDL, se muestran en la figura 20. Se puede observar que el grupo hipertenso (48.93 ± 3.92 UA/mg de prot) presentó un incremento del 139.83% en comparación con el grupo control (20.40 ± 1.81 UA/mg de prot). A pesar de que el grupo hipertenso ejercitado (39.52 ± 7.06 UA/mg de prot) tuvo una reducción del 19.23% respecto al grupo hipertenso, no presentó diferencias significativas contra este. En el grupo tratado con diazóxido durante la hipertensión (32.64 ± 5.68 UA/mg de prot), se presentó una disminución del 33.29% en los niveles de ERO respecto al grupo hipertenso, con diferencias significativas respecto al grupo hipertenso. Por otra parte, al comparar el grupo hipertenso con el grupo hipertenso tratado con la combinación de diazóxido y ejercicio (27.43 ± 3.35 UA/mg de prot), se observó una

diferencia significativa de $P<0.01$, demostrando de esta manera que este tratamiento disminuye los niveles de ERO.

En la figura 21 se presentan los resultados obtenidos de la medición de las ERO en el músculo sóleo de las ratas hipertensas. Se aprecia un aumento en el grupo hipertenso (39.24 ± 5.50 UA/mg de prot) en comparación con el grupo control (12.82 ± 0.77 UA/mg de prot). El grupo hipertenso ejercitado (36.15 ± 4.86 UA/mg de prot) no presentó diferencias estadísticas significativas contra el hipertenso, pero sí se observó una tendencia a disminuir en un 7.85%. El grupo hipertenso tratado con diazóxido (28.08 ± 4.63 UA/mg de prot) mostró diferencias estadísticas significativas con respecto al grupo hipertenso y representó una reducción del 28.43%. Observamos que en el grupo hipertenso ejercitado + diazóxido (23.12 ± 3.65 UA/mg de prot) existe una diferencia estadísticamente significativa ($P<0.04$) contra el grupo hipertenso.

Con estos datos se determinó que el tratamiento en conjunto del ejercicio y el diazóxido tiene efectos importantes en la disminución de ERO en el músculo EDL y el músculo sóleo de ratas con hipertensión experimental.

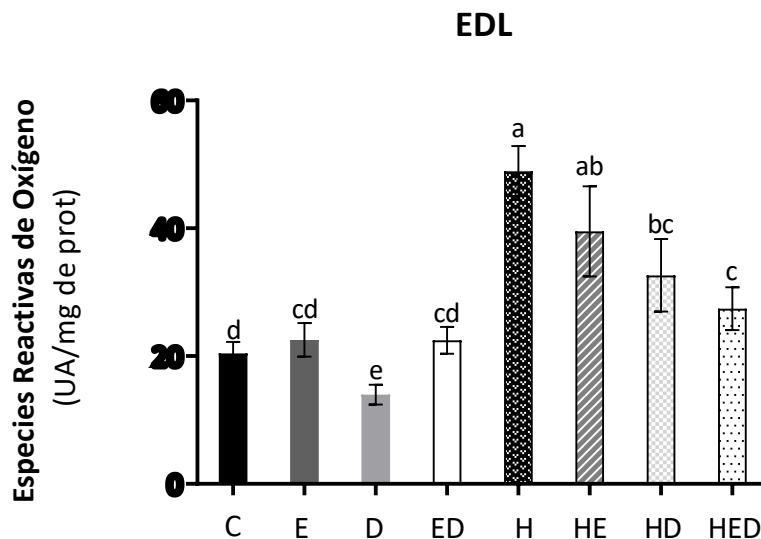


Figura 20. Niveles de especies reactivas de oxígeno en el músculo EDL de los diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestran los niveles de especies reactivas de oxígeno (UA/mg de prot) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso,

HE=hipertenso + ejercicio, HD= hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido n=5; Los datos se presentan como la media \pm error estándar. (ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

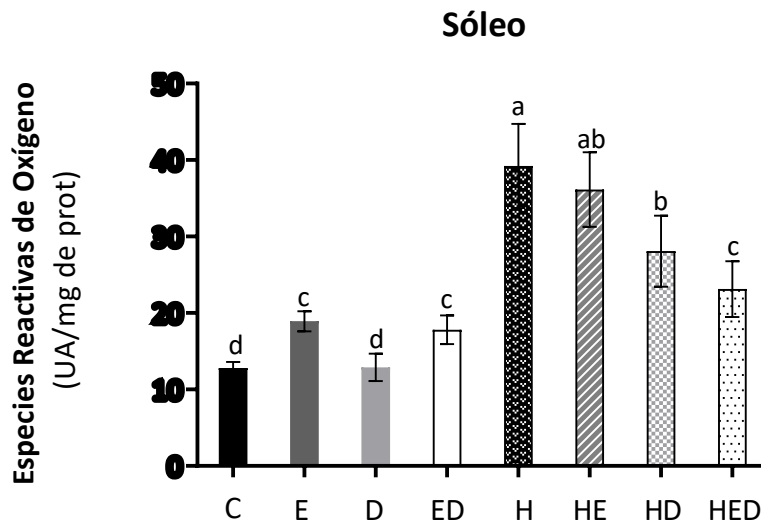


Figura 21. Niveles de especies reactivas de oxígeno en el músculo sóleo de los diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestran los niveles de especies reactivas de oxígeno (UA/mg de prot) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso + ejercicio, HD= hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido n=5; Los datos se presentan como la media \pm error estándar. (ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

7.8 Efecto del diazóxido y ejercicio sobre el estado rédox del glutatión en los músculos sóleo y EDL

Para determinar que los niveles de ERO en los músculos esqueléticos eran paralelos a los cambios de estrés oxidante, se analizó la defensa antioxidante de glutatión en el músculo EDL y el músculo sóleo. El glutatión total en el músculo EDL (figura 22) del grupo hipertenso (70.33 ± 4.70 %) mostró niveles reducidos contra el grupo control (100 ± 15.28 %) con una disminución del 29.66%. El glutatión oxidado (GSSG) en el músculo EDL (figura 23) aumentó considerablemente en las ratas hipertensas (157.82 ± 15.60 %) y los niveles del grupo hipertenso diazóxido ejercitado (54.42 ± 4.59 %) fueron

significativamente menores en un 65.51% en comparación con el grupo hipertenso y en un 58.25% con el grupo hipertenso diazóxido (130.37 ± 4.38 %). De manera consistente, en el glutati3n reducido del m3sculo EDL (figura 24), el ejercicio (67.80 ± 10.41 %) y el diazóxido (78.32 ± 12.08 %) mejoraron los niveles de GSH en comparaci3n con grupo hipertenso (12.29 ± 4.52 %), aunque el ejercicio y el diazóxido combinado (157.25 ± 17.54 %) incluso potenci3 este efecto, con un valor de $P < 0.0001$ significativamente mayor respecto al grupo hipertenso.

El glutati3n total en el m3sculo s3leo (figura 25) del grupo hipertenso (83.61 ± 5.61 %) no mostr3 diferencia estad3sticamente significativa respecto al grupo control (100 ± 9.22 %), pero s3 se observ3 una tendencia a la disminuci3n, as3 como podemos ver que el grupo hipertenso diazóxido ejercitado (109.83 ± 12.64 %) tiene un aumento del 31.37% en los niveles de glutati3n total respecto al grupo hipertenso. Los valores del GSSG oxidado (figura 26) tuvieron un aumento en el grupo hipertenso (120.96 ± 8.39 %) aunque no significativo, sin embargo, se observ3 una disminuci3n en los grupos hipertensos ejercitados (71.06 ± 10.93 %), diazóxido (50.60 ± 3.51 %) y ejercicio + diazóxido (57.86 ± 2.27 %). En la figura 27 se aprecian los valores del GSH reducido en el m3sculo s3leo, el grupo hipertenso (26.73 ± 12.83 %) present3 diferencias significativas respecto al grupo control (100 ± 14.96 %), y, los grupos hipertensos tratados con diazóxido (135.93 ± 24.22 %) y ejercicio (109.77 ± 17.74 %) aumentaron sus niveles y presentaron diferencias estad3sticamente significativas. Por otro lado, el grupo hipertenso tratado con diazóxido + ejercicio (188.95 ± 29.08) potenci3 el efecto al incrementar sus valores con una diferencia de $P < 0.0125$ con respecto el grupo hipertenso.

Los resultados anteriores nos sugieren que efectivamente los cambios en el estr3s oxidante son paralelos a los observados con la prueba de las ERO, ya que los par3metros para los grupos hipertensos se encuentran alterados en el estado r3dox del glutati3n. Por otro lado, los tratamientos diazóxido y ejercicio parecen mejorar esta alteraci3n causada por la hipertensi3n, pero teniendo un efecto ben3fico mayor con el tratamiento combinado.

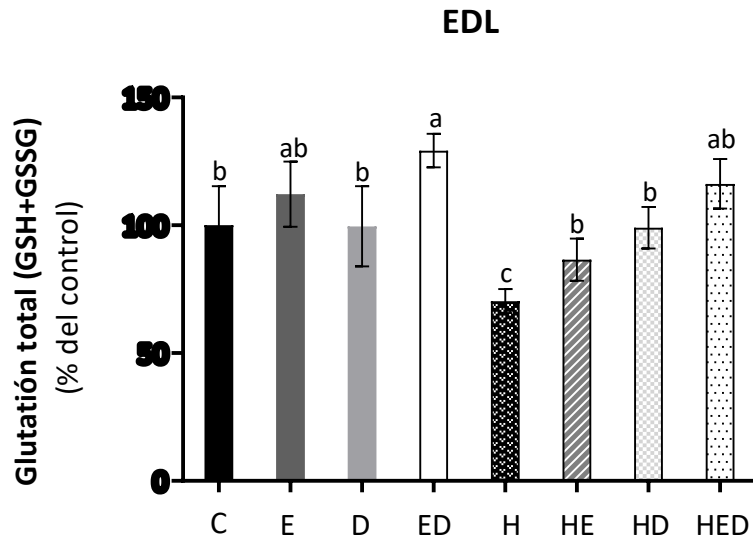


Figura 22. Niveles de glutación total (GSH+GSSG) en el músculo EDL de los diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestran los niveles de glutación total (% del control) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso + ejercicio, HD= hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido n=5; Los datos se presentan como la media \pm error estándar. (ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

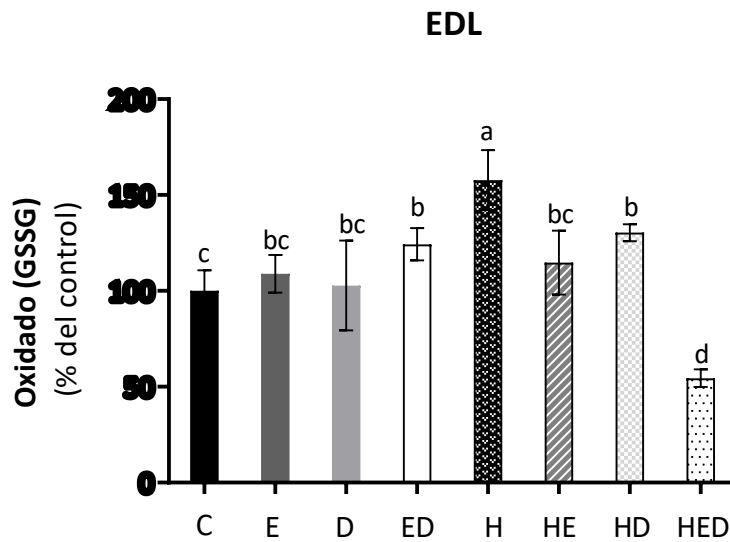


Figura 23. Niveles de glutatión oxidado (GSSG) en el músculo EDL de los diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestran los niveles de glutatión oxidado (% del control) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso + ejercicio, HD= hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido n=5; Los datos se presentan como la media \pm error estándar. (ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

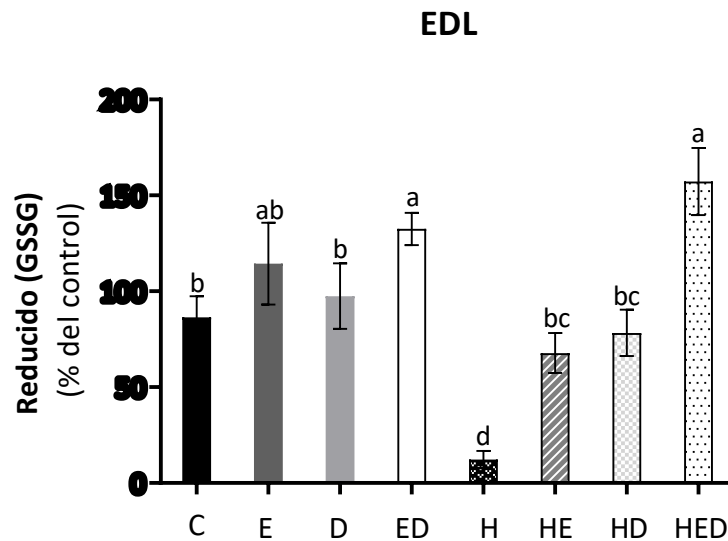


Figura 24. Niveles de glutatión reducido (GSH) en el músculo EDL de los diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestran los niveles de glutatión reducido (% del control) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso + ejercicio, HD= hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido n=5; Los datos se presentan como la media \pm error estándar. (ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

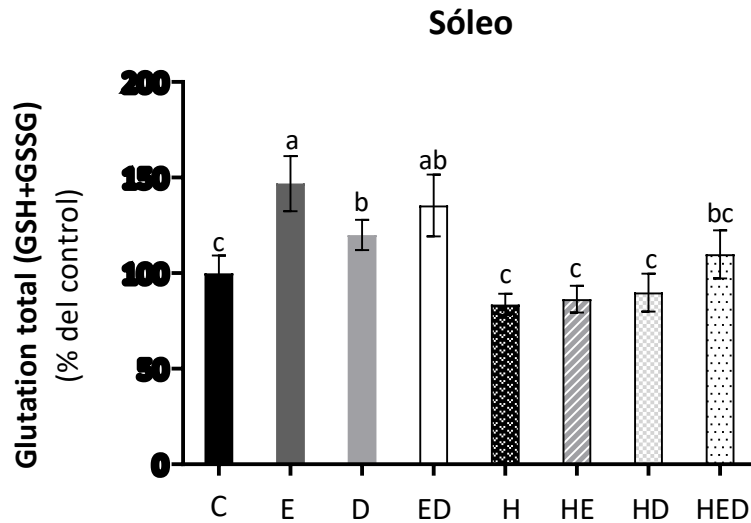


Figura 25. Niveles de glutación total (GSH+GSSG) en el músculo sóleo de los diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestran los niveles de glutación total (% del control) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso + ejercicio, HD= hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido n=5; Los datos se presentan como la media \pm error estándar. (ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

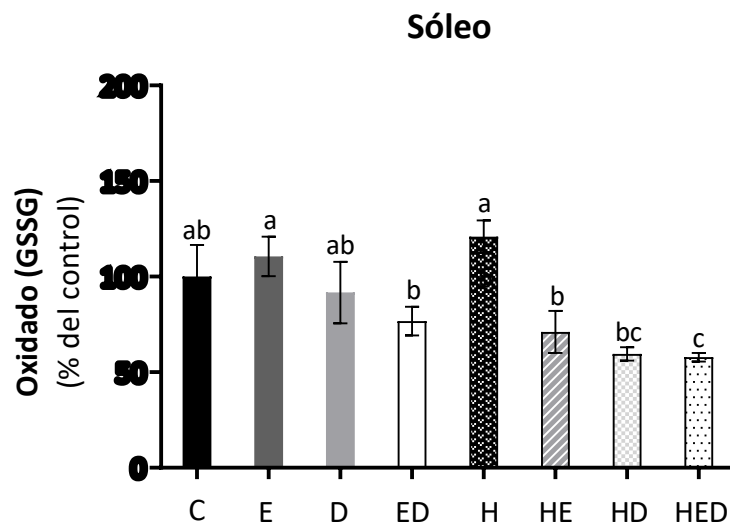


Figura 26. Niveles de glutación oxidado (GSSG) en el músculo sóleo de los diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestran los niveles de glutación oxidado (% del control) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso + ejercicio, HD= hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido n=5; Los datos se presentan

como la media \pm error estándar. (ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

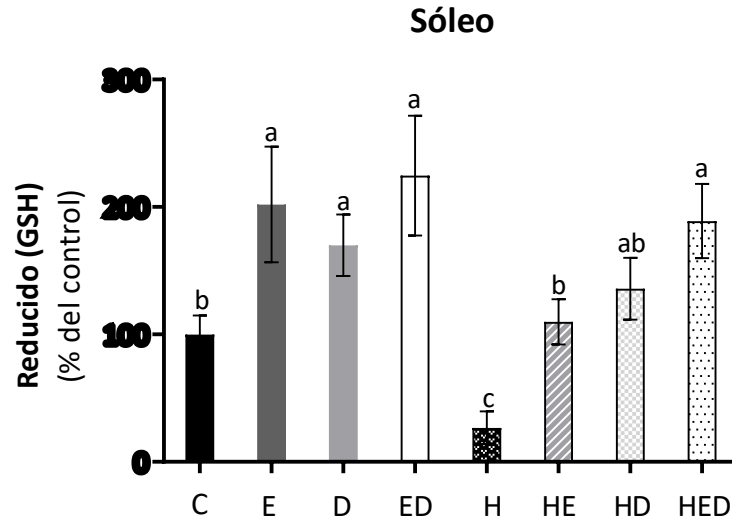


Figura 27. Niveles de glutatión reducido (GSH) en el músculo sóleo de los diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestran los niveles de glutatión reducido (% del control) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso + ejercicio, HD= hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido n=5; Los datos se presentan como la media \pm error estándar. (ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

7.9 Efecto del diazóxido y el ejercicio sobre la actividad de la enzima catalasa en los músculos EDL y sóleo

En la figura 28 se pueden observar los niveles de la enzima catalasa en el músculo EDL, expresado en UA/mg de proteína. Los niveles de la enzima catalasa se vieron disminuidos en el estado hipertensivo (13.02 ± 2.28 UA/mg de prot) en un 67.71% respecto al grupo control (40.35 ± 7.40 UA/mg de prot), sin embargo, estos valores se restauraron con el diazóxido (46.11 ± 9.79 UA/mg de prot) y el ejercicio (26.95 ± 4.59 UA/mg de prot) de manera individual y de manera conjunta. Cabe destacar que en el grupo hipertenso ejercitado diazóxido (95.44 ± 9.08 UA/mg de prot) se potenció el efecto

al tener un 632.72% de aumento en la actividad de la enzima catalasa contra el grupo hipertenso.

A su vez, en la figura 29 podemos corroborar estos resultados en el músculo sóleo, dónde se presenta el mismo comportamiento. Los tratamientos con diazóxido (43.21 ± 5.35 UA/mg de prot) y ejercicio (356.35 ± 5.54 UA/mg de prot) mostraron un aumento de la actividad de la catalasa, y el grupo diazóxido + ejercicio (57.73 ± 8.02 UA/mg de prot) potenció el efecto. Por otro lado, tenemos la hipertensión (4.23 ± 1.64 UA/mg de prot) sin tratamiento, que en comparación con el grupo control (19.95 ± 6.57 UA/mg de prot), mostró una significativa disminución de la actividad del 78.79%; al ejercitar el grupo hipertenso (15.02 ± 4.09 UA/mg de prot) los niveles de la actividad de la enzima se ven mejorados, y al administrar el diazóxido al grupo hipertenso (28.31 ± 9.61 UA/mg de prot) se observó un aumento de la actividad en un 255.19%, respecto al grupo hipertenso. El tratamiento combinado de ejercicio + diazóxido (59.72 ± 7.23 UA/ mg de prot) mostró un incremento del 1311.91% en comparación con el grupo hipertenso, demostrando de esta manera que la aplicación de ambos protocolos de manera simultánea beneficia significativamente al restaurar la actividad de la enzima catalasa que se ve afectada durante la hipertensión.

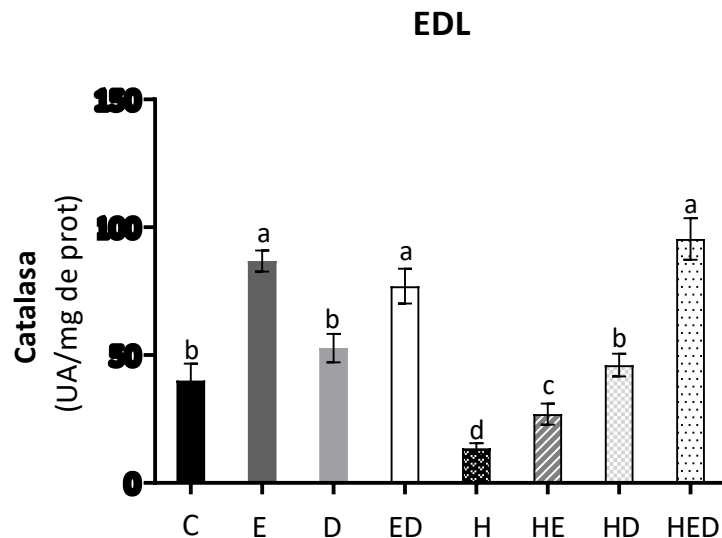


Figura 28. Actividad de la enzima catalasa en el músculo EDL de los diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestra la actividad de la enzima catalasa (UA/mg de prot) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso +

ejercicio, HD= hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido n=5; Los datos se presentan como la media \pm error estándar. (ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

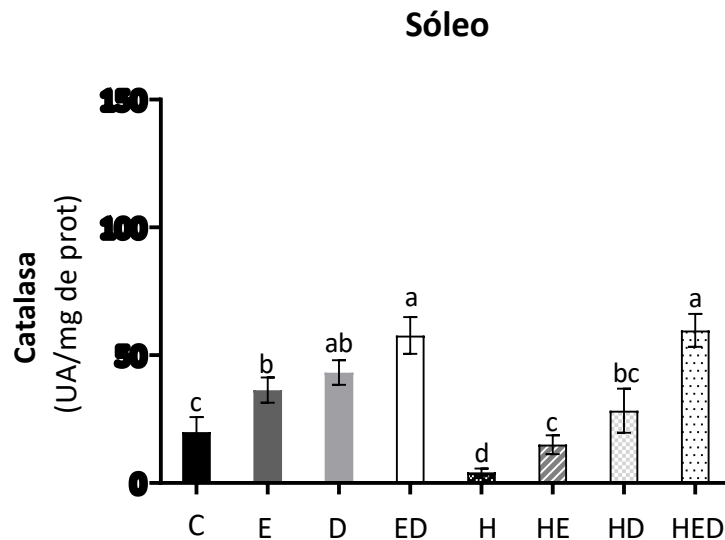


Figura 29. Actividad de la enzima catalasa en el músculo sóleo de los diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestra la actividad de la enzima catalasa (UA/mg de prot) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso + ejercicio, HD= hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido n=5; Los datos se presentan como la media \pm error estándar. (ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

7. DISCUSIÓN

En todo el mundo, más de mil millones de personas tienen presión arterial elevada y alrededor del 45% de los adultos se ven afectados por la enfermedad (Kazmi *et al.* 2020). El consumo excesivo de sal en la dieta (cloruro de sodio) se asocia con un mayor riesgo de hipertensión, que a su vez es un factor de riesgo importante en otras patologías cerebrovasculares y cardiovasculares, pero también de enfermedades renales (Rust y Ekmekcioglu, 2017). Los cambios metabólicos, el aumento de la producción de ERO y el

estrés oxidante en la HTA pueden afectar negativamente la integridad del músculo esquelético. El uso de agentes farmacológicos como el Diazóxido que es un vasodilatador y activador de los canales mitoK_{ATP}, ha demostrado ser eficaz en mejorar la fuerza de contracción muscular y resistencia a la fatiga, lo que reduce el marcador de estrés oxidante (Mogthadei *et al.* 2012).

El ejercicio ha sido documentado durante mucho tiempo para mejorar la presión arterial, conduciendo a la vasodilatación, mejorando la contracción muscular y el metabolismo (Nyberg, 2015). Se han reportado diferentes tipos de intensidades de ejercicio físico, el ejercicio de moderada intensidad promueve el transporte de glucosa y aumenta la defensa antioxidante, disminuyendo las especies reactivas de oxígeno al inducir la participación de los canales K_{ATP} para mejorar su función (Kraljevic *et al.* 2015; Lambertucci *et al.* 2006; Sánchez-Duarte *et al.* 2017). Sin embargo, la influencia de estos dos tratamientos en el músculo esquelético en condiciones hipertensas aún no se comprende por completo. Por lo tanto, en el presente estudio se investigó los efectos del diazóxido y el ejercicio de moderada intensidad en los músculos esqueléticos rápidos y lentos. En nuestros hallazgos, el tratamiento del diazóxido y el ejercicio demostró efectos benéficos en el funcionamiento del músculo esquelético al mejorar la fuerza de contracción muscular y el tiempo de resistencia a la fatiga, efectos beneficiosos paralelos a los cambios en la mejora de los niveles de presión arterial y la reducción de los niveles de estrés oxidante.

En este estudio se administró NaCl al 8% durante 4 semanas, para inducir hipertensión experimental en murinos. Las ratas presentaron niveles altos de presión arterial tanto sistólica como diastólica, lo que indica el establecimiento de la enfermedad. Concordante con nuestros resultados, Jakovljevic *et al.* (2019) utilizaron un protocolo experimental con una solución al 8% de NaCl en ratas Wistar albino y determinaron que al final del protocolo, los niveles de presión arterial se incrementaron. Sin embargo, en este trabajo se observó una mejora en el control de la presión arterial, esto al implementar el tratamiento con diáxido, el protocolo de ejercicio de moderada intensidad y la combinación de ambos, produciendo un efecto hipotensor significativo, efecto que puede estar relacionado con la función vascular al mejorar el equilibrio entre los sistemas vasodilatador y vasoconstrictor; mecanismos que podrían estar involucrados en la

regulación de estos sistemas es la apertura del canal K_{ATP} endotelial que media la secreción de óxido nítrico y ERO, el papel de estos canales en la protección y la génesis de la atenuación del daño podrían estar involucrados en la disminución de la presión arterial (Foster y Coetzee, 2016; Nyberg *et al.* 2015).

Se evaluaron los biomarcadores metabólicos tales como el peso corporal y los niveles de glucosa sanguínea en ayuno y resistencia a la insulina para determinar el efecto que tiene el diazóxido y el ejercicio durante la hipertensión. Como era de esperar, el peso corporal y la glucemia se vieron afectados en ratas hipertensas. Estos resultados concuerdan con lo reportado en el trabajo de Wang *et al.* en el 2018, quienes observaron que las ratas con una dieta alta en sal comenzaron a mostrar una mayor ingesta de alimento y un mayor volumen de orina y un peso corporal disminuido de aproximadamente del 9.6%. A su vez, se ha reportado que las ratas hipertensas presentan una disminución del peso corporal, esto debido a la pérdida de masa muscular crónica que se genera durante la hipertensión (Nemoto y Goyagi, 2021). Este marcado daño fue contrarrestado en los grupos que fueron sometidos a un protocolo de ejercicio, ya que podemos observar que la actividad física logró revertir el efecto causado por la patología. La pérdida de peso inducida por la dieta a la que se sometieron los grupos hipertensos va acompañada de varios cambios fisiológicos que involucran las alteraciones en el gasto de energía, el metabolismo de lípidos y las vías hormonales involucrada en la regulación del apetito (Sumithran y Proietto, 2013). En el marco de este proyecto, se hipotetiza que los tratamientos con ejercicio fomentaron la recuperación del peso, esto debido a que, al presentar mayores niveles de fuerza muscular y actividad física, se tienen menores niveles de la hormona insulina y de resistencia a la misma, que son aspectos fundamentales para controlar los niveles de glucosa, que como bien es conocido, son estímulos conocidos con capacidad de actuar a nivel del hipotálamo aumentando el gasto de energía a través de sus efectos beta-adrenérgicos. Además, cuando se practica ejercicio se poseen niveles más controlados de la hormona leptina, cuyo rol está estrechamente relacionada con el gasto energético (Calzada-León *et al.* 2008).

La hipertensión puede ser el resultado de acciones presoras y depresoras desequilibradas de la insulina (Sechi, 1999). Nuestros resultados arrojaron que la

hipertensión inducida por el NaCl eleva los niveles de glucosa sanguínea en ayuno, como la ha demostrado Reaven en el 2011 en sus respectivos trabajos sobre la profunda relación fisiopatológica entre la hipertensión y la resistencia a la insulina. Por otra parte, podemos ver un importante aumento de los niveles de glucosa en el grupo tratado con diazóxido en las últimas dos semanas, que es en el tiempo en el que se administró el fármaco, esto en alusión a los efectos que posee el diazóxido al inhibir la secreción de insulina. Sin embargo, a pesar de sus efectos secundarios, esto no representó una limitación del diazóxido durante la hipertensión, ya que, con los resultados obtenidos, los valores de la glucosa en sangre se ven disminuidos.

A su vez, para corroborar si existe una resistencia a la insulina, se realizó la prueba de tolerancia a la insulina al final de los tratamientos. La glucosa sanguínea aumentó en ratas tratadas con diazóxido. A partir de los 30 min el diazóxido no presentó diferencias significativas contra el tiempo 0. Esto indicó que durante los primeros minutos existe un deterioro de la captación de la glucosa, situación que es establecida por el fármaco, pero esto llegó a normalizarse durante los siguientes períodos, esto concuerda con lo descrito por Alemzadeh *et al.* (2008) dónde reportaron que el diazóxido genera resistencia a la insulina. El AUC aumentó significativamente en el grupo diazóxido en comparación con el grupo control, esto, en función de los valores significativamente más altos de glucosa en sangre y por la resistencia a la insulina presentada en los primeros períodos de tiempo. Sin embargo, de acuerdo con los razonamientos que se han venido realizando y los resultados, observamos que el diazóxido no genera una resistencia a la insulina en estados hipertensivos. La principal desventaja del tratamiento prolongado con el diazóxido es el desarrollo de la hiperglucemia, hasta ahora este efecto secundario ha limitado su uso, resulta oportuno que durante un estado hipertensivo no se incrementan los niveles de glucemia y en nuestro grupo de trabajo se ha demostrado en condiciones patológicas (Gómez-Barroso *et al.* 2020).

Las investigaciones en el músculo esquelético durante la hipertensión son escasas y aún se desconocen la gran diversidad de mecanismos que se encuentran afectados por la patología. En este trabajo se realizó el registro de tensión en los músculos esqueléticos de fibras lentas y rápidas. En el músculo sóleo del grupo hipertenso no se presentaron diferencias estadísticamente significativas contra el grupo control, aunque si

se apreció una tendencia a la disminución de la fuerza de contracción muscular. Sin embargo, en el tiempo de resistencia a la fatiga muscular, el grupo de ratas hipertensas presentó una notable disminución de la resistencia a la fatiga. Esto concuerda con el trabajo Nemoto y Goyagi (2021), donde también se observó una pérdida de fuerza muscular en ratas hipertensas. A su vez, en una publicación de Lexell y colaboradores (1988), determinaron que la hipertensión induce a la pérdida de fibras musculares de tipo 1 y tipo 2, sin embargo, exhibieron una reducción con un efecto dominante sobre las fibras tipo 2. Es por ello por lo que logramos observar una disminución de la contracción muscular significativa en el músculo EDL y no en el músculo sóleo.

Con base en estos resultados, se corroboraron las diferencias entre el músculo sóleo y músculo EDL, ya que el músculo sóleo al estar formado principalmente de fibras tipo I de contracción lenta, desarrollan tensiones relativamente bajas y son resistentes a la fatiga, mientras que el músculo EDL al estar conformado principalmente de fibras de tipo II que son de contracción rápida, desarrollan altas tensiones y dependen del metabolismo anaerobio, son muy susceptibles a la fatiga (López-Chicharro y Fernández-Vaquero 2010) situación que se evidencia en este trabajo.

Se ha encontrado que durante la hipertensión se produce una serie de respuestas como la disminución del flujo sanguíneo hacia los órganos periféricos y una atrofia muscular, esto como resultado de cambios en el equilibrio de los sistemas que regulan la presión arterial, se pierde masa muscular esquelética, lo que conduce a la debilidad muscular e inactividad (Ekiz *et al.* 2020; Nyberg *et al.* 2015). En un estudio se investigaron en modelos de ratón el desarrollo de atrofia y disfunción muscular en un entorno de insuficiencia cardíaca del ventrículo derecho que imita la insuficiencia cardíaca humana durante la hipertensión pulmonar crónica. Sus resultados arrojaron que la enfermedad se asoció con atrofia muscular y disfunción muscular (pérdida de fuerza absoluta) (Nguyen *et al.* 2020). La atrofia muscular es acompañada por una regulación negativa de enzimas involucradas en la producción de energía mitocondrial y la transferencia de energía (Jones *et al.* 2004).

Lo que podemos destacar a continuación es que los tratamientos diazóxido, y ejercicio + diazoxido durante el estado patológico presentaron una mayor contracción muscular en comparación con el grupo hipertenso, demostrando de esta manera que los

protocolos son benéficos para mejorar la fuerza del músculo esquelético y a su vez, mejorar el tiempo de resistencia a la fatiga. Esto representa un hallazgo importante ya que en los marcos de las observaciones anteriores del ejercicio y del diazóxido en el músculo esquelético han sido favorables, sin embargo, este trabajo aporta información significativa sobre los efectos de tales tratamientos bajo un estado hipertensivo, demostrando de esta manera que las hipótesis sobre la atenuación de la fatiga muscular provocada por la enfermedad, son correctas. Estos resultados son consistentes con Gliemann *et al.* 2015, quienes encontraron que el entrenamiento físico aumentó la relación capilar-fibra en humanos. Es probable que esta adaptación en la ultraestructura capilar mejore las condiciones de difusión de oxígeno y el intercambio de metabolitos. Además de estos cambios estructurales, el ejercicio mejora la función endotelial tanto en modelos de animales como en pacientes. Los mecanismos subyacentes a este efecto incluyen una mejor biodisponibilidad de ON (Nyberg *et al.* 2012), un mejor equilibrio entre los niveles de prostaciclina y tromboxanos en el músculo esquelético (Hellsten *et al.* 2012), mejor equilibrio entre la formación de ERO y los sistemas antioxidantes (Higashi y Yoshizumi, 2004) y niveles circulantes más bajos de ET-1 (Nyberg *et al.* 2013).

Por otra parte, el diazóxido es uno de los activadores del canal mitoK_{ATP} más utilizado (Costa y Garlid, 2008). La activación de los canales K_{ATP} mejora la contracción muscular y favorece la resistencia a la fatiga (Mogthadei *et al.* 2012). Se sugiere que este efecto protector del diazóxido en la apertura de los canales mitoK_{ATP}, se debe a la entrada de K⁺ a la matriz por la apertura de éstos, acompañado de la entrada de agua, causando la expansión del volumen mitocondrial, lo que conlleva a un aumento de la respiración a través de la cadena transportadora de electrones y a un aumento de la síntesis de ATP, lo que beneficiará a la contracción muscular y una disminución de la fatiga (Costa *et al.* 2006)

En resumen, la HTA se asocia con alteraciones vasculares estructurales y funcionales que se espera que contribuyan a un suministro reducido de oxígeno al músculo esquelético en contracción. El entrenamiento físico y el diazóxido mejoran la función endotelial, mejoran las condiciones para la difusión de oxígeno y los diversos mecanismos involucrados en el músculo esquelético de sujetos hipertensos y es probable

que estas adaptaciones sean importantes para una mejor combinación del flujo sanguíneo, y el metabolismo oxidativo en el músculo esquelético (Nyberg *et al.* 2015).

Durante la HTA hay una disfunción endotelial asociada a la presencia de citocinas proinflamatorias y estrés oxidante. Se ha informado de que el estrés oxidante en el músculo esquelético podría ser consecuencia de la HTA (Grossman, 2008; Hernández *et al.* 2011). Nuestros resultados demostraron que el grupo experimental de ratas hipertensas aumentaron de manera significativa los niveles de las ERO. El tratamiento con el diazóxido y el ejercicio exhibió una disminución importante de los valores de ERO. Este comportamiento de los resultados se obtuvo tanto para el músculo EDL, como para el músculo sóleo, y con estos datos determinamos que el tratamiento del ejercicio y el diazóxido tiene efectos importantes en la disminución de las ERO en los músculos de fibras de tipo lentas y rápidas de ratas con hipertensión experimental. Consistentes con nuestros resultados, Hernández *et al.* (2011) estudiaron el efecto de una perfusión inadecuada de los vasos sanguíneos que irrigan al músculo esquelético en SHR y encontraron un proceso inflamatorio en el músculo esquelético y el aumento del estrés oxidante. Se han encontrado alteraciones en los músculos esqueléticos de seres humanos e igualmente en modelos de animales durante la hipertensión. A su vez, en nuestro grupo de trabajo Gómez-Barroso *et al.* (2020), se reportó que las ratas obesas tratadas con diazóxido mostraron una disminución de los niveles de peroxidación lipídica en el músculo sóleo y EDL. El pretratamiento con diazóxido contribuye a la resistencia del tejido muscular contra el daño isquémico al disminuir esta peroxidación lipídica. De manera similar, se ha mostrado una disminución de los niveles de peroxidación lipídica en ratas obesas ejercitadas (Farahini *et al.* 2012). La disminución tanto de los niveles de ERO como de la peroxidación lipídica con el tratamiento con diazóxido y el ejercicio, y la combinación de ambos fue directamente proporcional a la mejora de la contracción muscular y la resistencia a la fatiga (Gómez-Barroso *et al.* 2020), resultados que son consistentes con los obtenidos en esta serie experimental, pero durante la HTA.

El organismo dispone de mecanismos para prevenir la aparición del daño oxidativo, uno de los cuales es la activación de las enzimas antioxidante endógenas. Algunas de las enzimas antioxidantes son la catalasa y la glutatión peroxidasa, cuya síntesis se modifica por el ejercicio, la dieta y la edad (Fernández *et al.* 2009; Miguel-Dos-

Santos *et al.* 2021). Paralelos a los resultados de las ERO, los niveles de la enzima catalasa se vieron disminuidos en un estado hipertensivo, sin embargo, estos valores se restauraron con el diazóxido y el ejercicio de manera individual y de manera conjunta en el músculo EDL y sóleo. En individuos sanos, los ensayos enzimáticos se expresan de diferentes formas en diferentes órganos, dependiendo de los procesos metabólicos y funcionales que ocurren en ellos. Sin embargo, las enzimas antioxidantes del ensayo se reducen durante la presión arterial alta. Consistentes con nuestros resultados, se ha observado la actividad reducida de las enzimas antioxidantes en animales hipertensos (Miguel-Dos-Santos *et al.* 2021). Otros estudios corroboran estos hallazgos, demostrando que tanto la actividad, como la expresión genética de estas enzimas están reducidas en un modelo de hipertensión renovascular (Nishi *et al.* 2010; Toklu *et al.* 2010). Se ha demostrado que el entrenamiento ha aumentado la actividad de las enzimas SOD y CAT en el corazón y el riñón de animales con hipertensión inducida, utilizando el mismo modelo de hipertensión renovascular. Se ha demostrado que el entrenamiento de fuerza promueve un aumento de las enzimas antioxidantes en el músculo esquelético y cardíaco (Toklu *et al.* 2010; Cardoso *et al.* 2013; Maia *et al.* 2015; Roumeliotis *et al.* 2019; Miguel-Dos-Santos *et al.* 2021). Por otra parte, se ha comprobado que la actividad de la SOD y la CAT disminuye en el tejido muscular durante la isquemia-reperfusión. El pretratamiento con el diazóxido (40 mg/kg) en animales aumentó la actividad de la SOD y la CAT después de la lesión por isquemia-reperfusión. El pretratamiento con L-NAME en ratas tratadas con diazóxido aumentó la actividad de ambas enzimas (Farahini *et al.* 2012).

Nuestros resultados para el glutatión mostraron que tanto los niveles de GSH + GSSG del músculo sóleo y el músculo EDL, así como el GSH, se redujeron durante la hipertensión, mientras que los niveles de GSSG de los músculos EDL y sóleo, se incrementaron. La disminución del contenido de GSH sugiere que la hipertensión afecta la capacidad antioxidante. Se ha informado que la actividad del glutatión aumenta en el músculo esquelético tratado con el diazóxido durante la isquemia-reperfusión (Moghtadaei *et al.* 2021). Del mismo modo, el ejercicio presenta este mismo efecto durante la hipertensión ya que potencia la actividad antioxidante (Nyberg *et al.* 2015).

El glutatión juega un papel importante en el metabolismo del ON, éste reacciona con el peroxinitrito de los snitrosotioles (RSNO), que posteriormente liberan ON durante

un tiempo prolongado para extender la vida media del ON, evitando así los efectos negativos de la eliminación del ON por parte del superóxido. Este papel en la disponibilidad del ON demuestra que es un antioxidante que tiene la capacidad de tener una función particular en el mantenimiento de la función endotelial (Hernández *et al.* 2011) y es probable que ésta sea importante para la mejora en la correspondencia del flujo sanguíneo y la utilización de oxígeno en la contracción del músculo esquelético (Nyberg *et al.* 2015).

Estudios previos sugirieron que el desequilibrio rédox está asociado con la patogenia de la hipertensión, esto ocurre debido al desequilibrio existente entre la producción elevada de ERO y/o la reducción de la capacidad antioxidante. Tanto los resultados experimentales disponibles, como los obtenidos por este grupo de trabajo, indican que el ejercicio físico y el diazóxido tienen un efecto beneficioso sobre el estado rédox y la hipertensión. Y a su vez, la combinación de estos tratamientos potencia el incremento de la defensa antioxidante de manera significativa. Por lo tanto, el diazóxido y el ejercicio pueden tener una importancia potencial para el tratamiento de la hipertensión, para mejorar la funcionalidad del músculo esquelético, al incrementar su defensa antioxidante y disminuir los niveles de las ERO. (Gómez-Barroso *et al.* 2020; Larsen y Matchkov 2016).

8. CONCLUSIONES

Este estudio demostró que el diazóxido y el ejercicio tienen un efecto benéfico al mejorar el funcionamiento de las fibras musculares de tipo lentas y rápidas en la hipertensión, esto al reducir el estrés oxidante y disminuir los niveles de presión arterial. El diazóxido y el ejercicio en sujetos con HTA presentan una mayor magnitud en el efecto hipotensivo, disminuyen los niveles de ERO, mejoran el estado rédox de glutatión, aumentan la defensa antioxidante de la catalasa y mejoran la contracción muscular en la hipertensión, lo cual podría tener una implicancia terapéutica a favor de estos tratamientos.

9. LITERATURA CITADA

Abdel-Ghafar, M. T. (2020). An overview of the classical and tissue-derived renin-angiotensin-aldosterone system and its genetic polymorphisms in essential hypertension. *Steroids*. 163: 108701.

Alemzadeh, R., M. D. Karlstad, K. Tushaus y M. Buchholz. (2008). Diazoxide enhances basal metabolic rate and fat oxidation in obese Zucker rats. *Metabolism Clinical and Experimental* 57:1597–1607

Borst, J. G. y A. Borst-De Geus. (1963). Hypertension explained by Starling's theory of circulatory homeostasis. *Lancet*. 1(7283): 677-82.

Bradley, K. G. (2014). Cunningham. Fisiología Veterinaria. 5ª Ed. *Elsevier*. 620 pp.

Buckley, B. J R., D. Thijssen y G. Y. H. Labio. (2020). Relative skeletal muscle mass and incident hypertension: associations, caveats and future perspectives. *Journal of hypertension*. 38 (11): 2150-2151.

Calzada-León R., N. Altamirano-Bustamante y M. Ruiz-Reyes. (2008). Neuroendocrine and gastrointestinal modulators of appetite and satiety. *Biol Med Hosp Inf*. 65(6): 1665-1146.

Cardoso A. M., C. C. Martins, S. F. Fiorin, R. Schmatz F. H Abdalla y J. Gutierrez (2013). Physical training prevents oxidative stress in L-NAME-induced hypertension rats. *Cell Biochem Funct*. 31(2): 135-51.

Costa, A. y K. D. Garlid. (2008). Intramitochondrial signaling: interactions among mitoKATP, PKC ϵ , ROS, and MPT. *Am J Physiol Heart Cir*. 295, 274-282.

DeLoach, S. S. y R. R. Townsend. (2008). Systolic hypertension: a guide to optimal therapy. *Consultant*. 48(3).

Ekiz, T., M. Kara, V. Ricci y L. Özçakar. (2021). Obstructive sleep apnea síndrome-related hypertension and sarcopenia: a bried glance on the renin-angiotensin-aldosterone system. *Sleep Breath*. 25: 1159-1161.

ENSANUT (2018). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, 2018. Secretaría de Salud y Nutrición, Instituto Nacional de Salud Pública (INSP), Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), México.

Farahini H., M. Ajami, J. Mirzay Razaz, N. Azad, M. Soleimani, S. A. Ayatollahi, N. Abotaleb N., H. Peyrovi y H. Pazoki-Toroudi. (2012). Nitric Oxide is Necessart for Diazoxide Protection Against Ischemic Injury in Skeletal Muscle. *Iran J Pharm Res.* 11(1): 375-81.

Fernández J. M., M. E. Da Silva-Grigoletto y I. Tunez-Fiñaca. (2009). Estrés oxidative inducido por el ejercicio. *Rev Andal Med Deporte.* 2: 19-34.

Flagg, T., D. Enkvetchakul, J. C. Koster y C. G. Nichols. (2010). Muscle KATP channels: recent insights to energy sensing and myoprotection. *Physiol Rev* 90: 799–829.

Foster M. N. y W. A. Coetzee. (2016). KATP Channels in the Cardiovascular System. *Physiol Rev.* 96(1): 177-252.

Fox, S. I. (2011). Fisiología humana. 12^a Ed. McGraw-Hill Interamericana, S. A. de C.V. 810 pp.

Fujiwara, N., T. Osanai, T. Kamada, T. Katoh, K. Takashi y K. Okamura. (2000). Study on the relationship between plasma nitrite and nitrate level and salt sensitivity in human hypertension: modulation of nitric oxide synthesis by salt intake. *Circulation.* 101 (8): 856-61.

Gliemann L., R. Buess, M. Nyberg, H. Hoppeler, A. Odriozola, P. Thaning, Y. Hellsten, O. Bau y S. P. Mortensen. (2015). Capillary growth, ultrastructure remodeling and exercise training in skeletal muscle of essential hypertensive patients. *Acta Physiol.* 214(2): 210-20.

Gómez-Barroso M., K. M. Moreno-Calderón, E. Sánchez-Duarte, C. Cortés-Rojo, A. Saavedra-Molina, A. R. Rodríguez-Orozco y R. Montoya-Pérez. (2020). Diazoxide and Exercise Enhance Muscle Contraction during Obesity by Decreasing ROS Levels, Lipid Peroxidation, and Improving Glutathione Redox Status. *Antioxidants.* 9(12): 1232.

Gornall, G., C. J. Bardwill y M. M. David. (1949). Determination of serum proteins by means of the Biuret reaction. *J Biol Chem.* 177 (2): 751-760.

Gosker, H. R., E. F. Wouters, G. J. van der Vusse y A.M. Schols (2000). Skeletal muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease and chronic heart failure: underlying mechanisms and therapy perspectives. *Am J Clin Nutr.* 71: 1033-1047.

Grossman E. (2008). Does increased oxidative stress cause hypertension? *Diabetes Care.* 31:185-S189.

Gu, D., Q. Zhao y T. N. Kelly. (2012). The role of the kallikrein-kinin system genes in the salt sensitivity of blood pressure: the GenSalt Study. *Am J Epidemiol.* 7:72-80

Guyton, A. C., T. G. Coleman y H.J Granger. (1972). Circulation: overall regulation. *Annu Rev Physiol.* 34: 13-46.

Hall, J. E. (2016). Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica. 13ª Ed. Elsevier. 1168 pp.

Han J. M., M. Y. Lee, K. B. Lee, H. Kim y Y. Y. Hyun. (2020). Low relative skeletal muscle mass predicts incident hypertension in Korean men: a prospective cohort study. *J Hypertens.* 38:2223-2229.

He, F. J., N. D. Markandu, G. A. Sangella, H. E. de Wardener y G. A. MacGregor. (2005). Plasma sodium: ignored and underestimated. *Hypertension.* 45(1): 98-102.

Hellsten Y., L. Jensen, P. Thaning, M. Nyberg y S. Mortensen. (2012). Impaired formation of vasodilators in peripheral tissue in essential hypertension is normalized by exercise training: role of adenosine and prostacyclin. *J Hypertens.* 30(10): 2007-2014.

Hernández, N., J. B. De Sanctis, M. Losasa, S. H. Torres, A. Sosas y M. Rivas. (2011). Estrés oxidativo en los músculos soleo y extensor digitorum longus (EDL) de ratas espontáneamente hipertensas. *Investigación Clínica,* 52(3), 239-251.

Hibino, H., A. Inanobe, K. Furutani, S. Murakami, I. Fndlay y Y. Kurachi (2010). Inwardly rectifying potassium channels: their structure, function and physiological roles. *Physiol Rev* 90: 291–366.

Higashi Y. y M. Yoshizumi, (2004). Exercise and endothelial function: role of endothelium-derived nitric oxide and oxidative stress in healthy subjects and hypertensive patients. *Pharmacol Ther.* 102(1): 87-96.

IMSS. (2018). Instituto Mexicano del Seguro Social. Revisado el 10 de octubre, 2020.

Jakovljevic, B., S. Plecevic, A. Petkovic, T. N. Turnic, I. Milosavljevic, K. Radoman e I. Srejovic. (2019). Is 3 weeks of exercise enough to change blood pressure and cardiac redox state in hypertensive rats? *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research*. 20(4): 319-126.

Jeulin, C., J. C. Soufir, P. Weber, D. Laval-Martin y R. Calvayrac. (1989). Catalase activity in human spermatozoa and seminal plasma. *Gamete Res*. 24: 185-196.

Jones S. W., R. J. Hill, P. A. Krasney, B. O'Conner, N. Peirce y P. L. Greenhaff. (2004). Disuse atrophy and exercise rehabilitation in humans profoundly affects the expression of genes associated with the regulation of skeletal mass. *FASEB J*. 18: 1025-1027.

Kazmi I., W. H. Al-Maliki, H. Ali y F. A. Al-Abbasi. (2021). Biochemical interaction of salt sensitivity: a key player for the development of essential hypertension. *Mol Cell Biochem*. 476(2): 767-773.

Koba S., R. Watanabe, N. Kano y T. Watanabe. (2012). Oxidative stress exaggerates skeletal muscle contraction-evoked reflex sympathoexcitation in rats with hypertension induced by angiotensin II. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 304: H142-H153.

Kraljevic, J., M. A. Høydal, M. Ljubkovic, J. B. Moreira, K. Jørgensen, H. O. Ness, F. H. Bækkerud, Z. Dujic, U. Wisløff y J. Marinovic. (2015). Role of katp channels in beneficial effects of exercise in ischemic heart failure. *Med Sci Sports Exerc*. Dec; 47(12):2504-12.

Lahera, V., V. Cachofeiro y N. D. Heras. (2010). Regulación de la presión arterial. En C. A.-L. Jesús A. Fernández-Tresguerres. *Fisiología Humana*, 4e. México, D. F.: McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A. de C.V.

Lambertucci, R. H., A. C. Levada-Pires, L. V. Rossoni, R. Curi y T. C. Pithon-Curi. (2006). Effects of aerobic exercise training on antioxidant enzyme activities and mRNA levels in soleus muscle from young and aged rats. *Mechanisms of Ageing and Development* 128:267–275.

Larsen, M. K. y V. V. Matchkov. (2016). Hypertension and physical exercise: The role of oxidative stress. *Medicina*. 54(1): 19-27.

Lexell J., C. C. Taylor y M. Sjöström. (1988). What is the cause of ageing atrophy? Tonal number, size and proportion of different fiber types studied in whole vastus lateralis muscle from 15- to 83-year-old-men. *J Neurol Sci.* 84(2-3). 275-94.

Lifton, R. P., A. G. Gharavi y D. S. Geller. (2001). Molecular mechanisms of human hypertension. *Cell.* 104(4): 545-556.

Liu, X., P. Duan, X. Hu, R. Li y Q. Zhu. (2016). Altered K_{ATP} Channel Subunits Expression and Vascular Reactivity in Spontaneously Hypertensive Rats With Age. *Journal of cardiovascular pharmacology.* 68(2): 143-149.

López-Acedo, A., M. T. Flores-Morgado, M. I. Cambero-Flores. (2006). Hipertensión arterial. Documento de apoyo a las actividades de Educación para la Salud 6. Junta de Extremadura Consejería de Sanidad y Consumo. Rayedo, Zafra. ISBN: 84-95872-75-7.

López-Chicharro J. y A. Fernández-Vaquero. (2010). Fisiología del ejercicio. 3^a Ed. Médica Panamericana. Barcelona. 987 pp.

Maclaren D. J. Morton. (2012) Biochemistry for sport and exercise metabolism. 1ra Edición. Ed. Wiley-Blackwell. Capítulo 2:11-30.

Maia R. C., L. E. Sousa, R. A. Santos, M. E. Silva, W. G. Lima y M. J. Campagnole-Santos. (2015). Time-course effects of aerobic exercise training on cardiovascular and renal parameters in 2K1C renovascular hypertensive rats. *Braz J Med Biol Res.* 48(11): 1010-22.

Majzunova, M., I. Dovinova, M. Barancik y J. Y. Chan. (2013). Redox signaling in patophysiology of hypertension. *J Biomed Sci.* 20: 69.

Manning, R. D., N. Tian y S. Meng. (2005). Oxidative Stress and Antioxidant Treatment in Hypertension and the Associated Renal Damage. *Am J Nephrol.* 25: 311-311. doi: 10.1159/000086411

Martins, L. C., V. N. Figueiredo, T. Quinaglia, L. Boer-Martins, J. C. Yugar-Toledo, J. F. Martin y H. Moreno Jr (2011). Characteristics of resistant hypertension: ageing, body mass index, hyperaldosteronism, cardiac hypertrophy and vascular stiffness. *Journal of human hypertension.* 24(9): 532.

Mekrami, S. y T.N. Brignol. (2006). Organización de la Motricidad. *Saber y entender*. México.

Michael, J.A. y S. Sircar (2010). *Fundamentals of medical physiology*. 7ª Ed. Thieme. 633 pp.

Miguel-Dos-Santos R., J. F. D Santos, F. N. Macedo, A. C. Marcal. V. J. Filho, R. V. Wichi y S. Lauton-Santos. (2021). Strength Training Reduces Cardiac and Renal Oxidative Stress in Rats with Renovascular Hypertension. *Arg Bras Cardiol*. 116(1): 4-11.

Moghtadaei M., R. Habibey, M. Ajami, M. Soleimani, S.A. Ebrahimi y H. Pazoki-Toroudi. (2012). Skeletal muscle post-conditioning by diazoxide anti-oxidative and anti-apoptotic mechanisms. *Mol Biol Rep*. 39: 11093-11103.

Navas-Santos, L., C. Nolasco-Monterroso, C. E. Carmona-Moriel, M. D. Lóez-Zamorano, R. Santamaría-Olmo y R. Crespo-Montero. (2016). Relación entre la ingesta de sal y la presión arterial en pacientes hipertensos. *Enfermería Nefrológica*. 19(1): 20-28.

Nemoto A. y T. Goyagi. (2021). Tail suspension is useful as sarcopenia model in rats. *Lab Anim Res*. 37(1): 7.

Nguyen T., T. S. Bowen, A. Augstein, A. Schauer, A. Gasch, A. Linke, S. Labeit y V. Adams. (2020). Expression of MuRF1 or MuRF2 is essential for the induction of skeletal muscle atrophy and dysfunction in a murine pulmonary hypertension model. *Skelet Muscle*. 10(1): 12.

Nishi, E. E., E. B. Oliveira-Sales, C. T. Bergamaschi, T.G. Oliveira, M. A. Boim y R. R. Campos. (2010). Chronic antioxidant treatment improves arterial renovascular hypertension and oxidative stress markers in the kidney in Wistar rats. *Am J Hypertens*. 23(5): 473-80.

Nyberg M., B. K. Al-Khazraji, S. P. Mortensen, D. N. Jackson, G. C. Ellis y Y. Hellsten. (2013). Effect of extraluminal ATP application on vascular tone and blood flow in skeletal muscle: implications for exercise hyperemia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 305(3): R281- R290.

Nyberg M., L. G. Jensen, P. Thaning, Y. Hellsten y S. P. Mortensen. (2012). Role of nitric oxide and prostanoids in the regulation of leg blood flow and blood pressure in humans

with essential hypertension: effect of high intensity aerobic training. *J Physiol.* 590(6): 1481-1494.

Nyberg, M., L. Gliemann y Y. Hellsten. (2015). Vascular function in health, hypertension, and diabetes: effect of physical activity on skeletal muscle microcirculation. *Scand J Med Sci Sports.* 4:60-73. doi: 10.1111/sms.12591.

OMS (2020). Informe mundial sobre la hipertensión. Ginebra, Suiza. Organización Mundial de la Salud.

Ortiz-Avila, O., C. A. Sámano-García, E. Calderón-Cortés, I. H. Pérez-Hernández, R. Mejía-Zepeda, A. R. Rodríguez-Orozco, A. Saavedra-Molina, C. Cortés-Rojo. (2013). Dietary Avocado Oil Supplementation Attenuates the Alteration Induced by Type I Diabetes Oxidative Stress in Electron Transfer at the Complex II-complex III Segment of the Electron Transport Chain in Rat Kidney Mitochondria. *J Bioenerg Biomembr.* 45 (3): 271-87.

Paurousis A., H. N. Carter, C. Tran, A. T. Erlich, Z. S. Mesbah-Moosavi, M. Pauly y D. A. Hood. (2018). Contractile activity attenuates autophagy suppression and reverses mitochondrial defects in skeletal muscle cells. *Autophagy.* 14(11): 1886-1897.

Reaven G. M. (2011). Relationships among insuline resistance, type 2 diabetes, essential hypertension and cardiovascular disease: similarities and differences. *J Clin Hypertens.* 13(4): 238-43.

Roe, N. D. y J. Ren. (2012). Nitric oxide synthase uncoupling: a therapeutic target in cardiovascular diseases. *Vasc Pharmacol.* 57: 168-172.

Roumeliotis S., A. Roumeliotis, E. Dounousy, T. Eleftheriadis y V. Liakopoulos. (2019). Dietary Antioxidant Supplements and Uric Acid in Chronic Kidney Disease: A Review. *Nutrients.* 11(8).

Rust P. y C. Ekmekcioglu. (2017). Impact of Salt Intake on the Pathogenesis and Treatment of Hypertension. *Adv Exp Med Biol.* 956: 61-84.

Sánchez-Duarte E., X. Trujillo, C. Cortés-Rojo, A. Saavedra-Molina, G. Camargo, L. Hernández, M. Huerta y R. Montoya-Pérez. (2017). Nicorandil improves post-fatigue

tension in slow skeletal muscle fibers by modulating glutathione redox state. *J Bioenerg biomembr.* 49(2): 159-170.

Sánchez-Duarte, E., C. Cortés-Rojo, L. A. Sánchez-Briones, J. Campos-García, A. Saavedra-Molina, I. Delgado-Enciso, U.A. López-Lemus y R. Montoya-Pérez. (2020). Nicorandil Affects Mitochondrial Respiratory Chain Function by Increasing Complex III Activity and ROS Production in Skeletal Muscle Mitochondria. *J Membr Biol.* 253(4): 309-318.

Sechi L. A. (1999). Mechanisms of insuline resistance in rat models of hypertension and their relationships with salt sensitivity. *J Hypertens.* 17(9): 1229-37.

Shu, J., A. Matarese y G. Santulli. (2019). Diabetes, body fat, skeletal muscle, and hypertension: The ominous chiasmus. *J Clin Hypertens.* 21(2):239-242. doi: 10.1111/jch.13453.

Sumithran R. y J. Proietto. (2013). The defense of body weight: a physiological basis for weight regains after weight loss. *Clin Sci (Lond).* 124(4): 231-41.

te Riert, L., J. H. van Esch, A. J. Rosks, A. H. van den Meracker y A. J. Danser (2015). Hypertension: renin-angiotensin-aldosterone system alterations. *Circulation research.* 116(6): 960-975.

Toklu H. Z., O. Sehirli, M. Ersahin, S. Suleymanoglu, O. Yiginer y E. Emekli-Alturfan. (2010). Resveratrol improves cardiovascular function and reduces oxidative organ damage in the renal, cardiovascular and cerebral tissues of two-kidney, one-clip hypertensive rats. *J Pharm Pharmacol.* 62(12): 1884-93.

Touyz, R. M., F. J. Rios, R. Alves-Lopes, K. B. Neves, L. L. Camargo y A. C. Montezano. (2020). Oxidative Stress: A Unifying Paradigm in Hypertension. *Can J Cardiol.* 36 (5): 659-670.

Vanhuotte, P. M., H. Shimokawa, E.H. Tang y M. Feletou. (2009). Endothelin dysfunction and vascular disease. *Physiol.* 193-222.

Wang Y., X. Liu, C. Zhang y Z. Wang. (2018). High salt diet induces metabolic alterations in multiple biological processes of Dahl salt-sensitive rats. *J Nutr Biochem.* 56: 133-141.

Wasada, T. (2002). Adenosine triphosphate-sensitive potassium (K(ATP)) channel activity is coupled with insulin resistance in obesity and type 2 diabetes mellitus. *Intern Med.* 41: 84-90.

Zehnder, C. (2010). Sodium, potassium and hypertension. *Rev Med Clin Condes.* 21(4): 508-515.

Zhao W., S. A. Swanson, Y. Jianfeng, X. Li, J. M. Shelton, W. Zhang y G. D. Thomas (2006). Reactive Oxygen Species Impair Sympathetic Vasoregulation in Skeletal Muscle in Angiotensin II-Dependent Hypertension. *Hypertension.* 48:637-643.

ANEXO 1

Perfil de lípidos

Se realizó la medición del perfil de lípidos para evaluar el efecto que tienen el diazóxido y el ejercicio de moderada intensidad en un estado hipertensivo. El suero se colectó después de la centrifugación de muestras de sangre a 3000-x g durante 5 min (centrífuga Thermo Scientific Sorvall RC 6+). Posteriormente, se utilizó un Sistema Fujifilm NX500i (Tokio, Japón) para analizar el colesterol sérico total (CT), los triglicéridos (TG) y las lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de muy baja intensidad (VLDL) utilizando reactivos Spinreact (Girona, España) siguiendo las instrucciones del proveedor.

Efectos del diazóxido y el ejercicio sobre el perfil de lípidos.

Los niveles de colesterol sérico se aprecian en la Figura 31. En comparación con el grupo control (67.25 ± 3.96 mg/dL), los niveles de colesterol fueron más altos en el grupo hipertenso (83 ± 4.52 mg/dL), mientras que en los grupos HE (65.75 ± 4.58 mg/dL), HD (71.50 ± 5.80 mg/dL) y HED (62 ± 8.82 mg/dL) se observaron cambios significativos al disminuirse los niveles. Los triglicéridos (figura 32) aumentaron drásticamente en el grupo hipertenso (110.25 ± 4.88 mg/dL) respecto al control (75.25 ± 11.41 mg/dL). Esto se contrarrestó en los grupos hipertenso + ejercicio (71.25 ± 5.29 mg/dL) e hipertenso + ejercicio + diazóxido (73 ± 6.94 mg/dL). No se detectaron diferencias entre los grupos en los niveles séricos de HDL (figura). En la figura observamos los niveles de LDL, el grupo hipertenso (18.75 ± 2.78 mg/dL) no muestra diferencias estadísticas respecto al grupo control (17.20 ± 1.11 mg/dL), aunque sí podemos ver una tendencia al incremento; sin embargo, en el grupo HED (10.17 ± 1.35 mg/dL) este efecto se ve revertido. En los niveles de VLDL (figura) el grupo hipertenso (24.05 ± 0.96 mg/dL) tuvo un incremento pronunciado. Esto fue totalmente aminorado por los tratamientos tanto individuales de diazóxido (12.92 ± 1.54 mg/dL) y ejercicio (13.47 ± 1.47 mg/dL), así como el tratamiento en conjunto (13.80 ± 1.80 mg/dL).

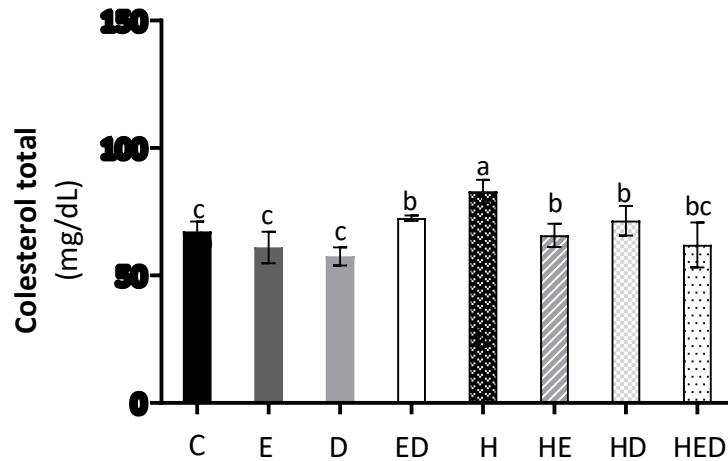


Figura 30. Niveles séricos de colesterol de los diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestran los niveles de colesterol (mg/dL) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso + ejercicio, HD= hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido n=4; Los datos se presentan como la media \pm error estándar. (ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

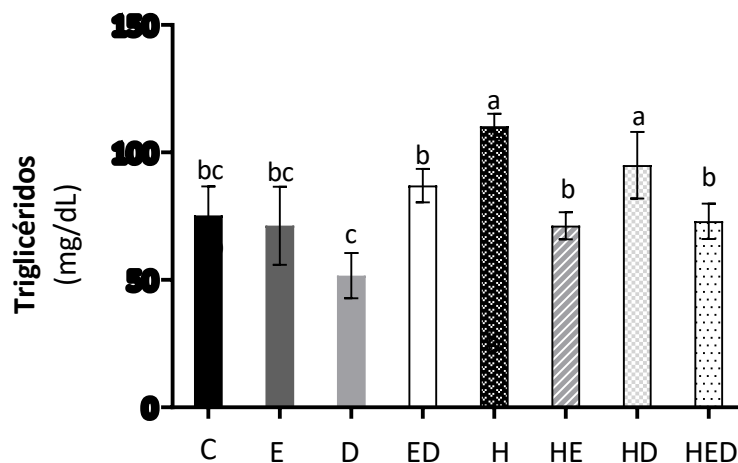


Figura 31. Niveles séricos de triglicéridos de los diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestran los niveles de triglicéridos (mg/dL) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso + ejercicio, HD= hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido n=4; Los datos se presentan como la media \pm error estándar. (ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

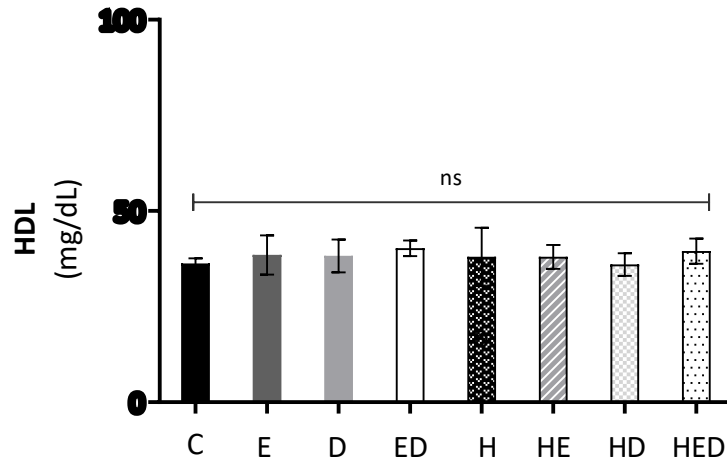


Figura 32. Niveles séricos de lipoproteínas de alta densidad (HDL) de los diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestran los niveles de HDL (mg/dL) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso + ejercicio, HD=hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido n=4; Los datos se presentan como la media \pm error estándar. (ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

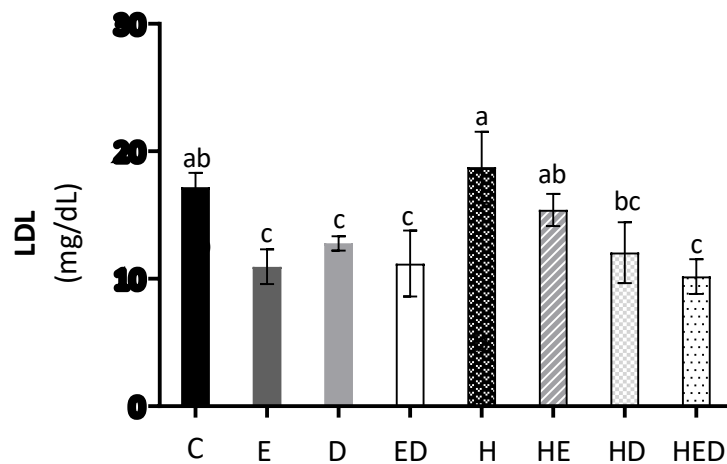


Figura 33. Niveles séricos de lipoproteínas de baja densidad (LDL) de los diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestran los niveles de LDL (mg/dL) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso + ejercicio, HD=hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido n=4; Los datos se presentan como la

media \pm error estándar. (ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

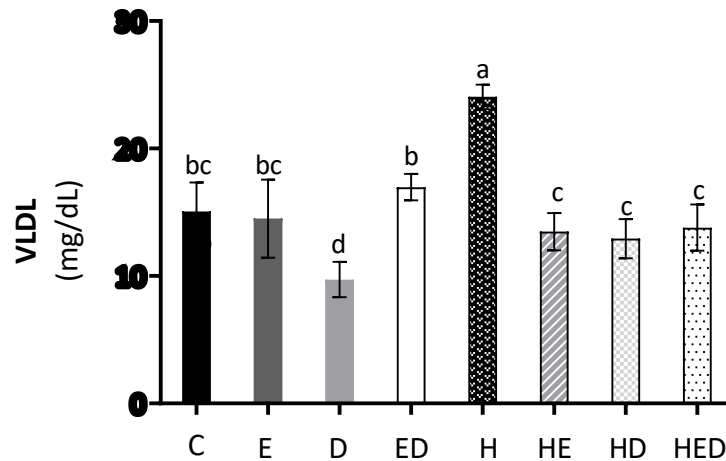


Figura 34. Niveles séricos de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) de los diferentes grupos experimentales. En esta figura se muestran los niveles de VLDL (mg/dL) para cada grupo C=control, E=ejercicio, D=diazóxido ED=ejercicio + diazóxido. H=hipertenso, HE=hipertenso + ejercicio, HD=hipertenso + diazóxido, HED=hipertenso + ejercicio + diazóxido n=4; Los datos se presentan como la media \pm error estándar. (ANOVA de 1 vía, Tukey prueba post-hoc). Las diferentes letras (minúsculas) indican las diferencias significativas entre grupos.

Cerca del 80% de los hipertensos presentan comorbilidades como obesidad, intolerancia a la glucosa, anomalías en el metabolismo de los lípidos entre otras. El aumento de los niveles séricos de TC, TG, LDL y la disminución de HDL están asociados con la hipertensión. La dislipidemia, que comprende una proporción alterada de nivel alto de TC y evaluación aislada de LDL o TG, generalmente se asocia con niveles elevados de PA. Existe una fuerte relación entre las concentraciones de colesterol total, LDL y el riesgo cardiovascular (Choudhury *et al.* 2014).

Los resultados del estudio de Choudhury y colaboradores en 2014 revelaron que los valores medios de TC, TG y LDL séricos fueron significativamente más altos y estadísticamente significativos entre pacientes hipertensos en comparación con los normotensos. Esto en consonancia con el mismo fenotipo observado en nuestro trabajo, donde observamos que los niveles de TC, TG, LDL y VLDL se incrementaron en ratas hipertensas inducidas con NaCl.

La disfunción endotelial también se ve afectada por una serie de parámetros lipídicos anormales. Las anomalías de las lipoproteínas, en particular de más baja densidad o el aumento de las concentraciones de partículas ricas en triglicéridos, pueden contribuir a la presión arterial alta al afectar la función endotelial y promover la resistencia a la insulina y la inflamación vascular (Lin y Lee, 2018; Paynter *et al.* 2011).

Se ha demostrado que el ejercicio aeróbico regular mejora las anomalías de los lípidos y la función endotelial. En un trabajo se demostró que, con un entrenamiento en un programa de cinta rodante durante 3 meses, existe un aumento significativo de HDL de aproximadamente el 29.99% y una reducción de LDL de aproximadamente 27.01% y en TG 17.70% (Lin y Lee, 2018). Estos efectos positivos también se observaron en el presente estudio, en los valores de TC, TG y VLDL.

El ejercicio físico también induce a la participación de los canales K_{ATP} , éstos son un eslabón perdido y fundamental en la progresión de HTA y dislipidemia, y un objetivo prometedor para la prevención y el tratamiento de HTA. Actualmente, el mecanismo de los K_{ATP} sobre la presión arterial y los niveles de lípidos sigue sin estar claros. La activación del SRAA recorre todo el proceso fisiopatológico de la HTA y la dislipidemia. Es importante destacar que nivel activado de SRAA circulante y tisular aumenta excesivamente cuando la HTA es interactiva con la dislipidemia (Liu *et al.* 2021; Ni *et al.* 2013) Mientras tanto, la falta de homeostasis de las lesiones de lípidos vasculares (especialmente la acumulación de LDL) aumenta la activación de SRAA (Liu *et al.* 2021)

El diazóxido reduce significativamente los triglicéridos, los niveles de ácidos grasos libres y la resistencia a la insulina. Se ha demostrado que el tratamiento con diazóxido en

ratas obesas en etapa prediabética previene las anomalías del perfil de lípidos (Gou *et al.* 2006).

El manejo de los lípidos es esencial y tiene una importancia crítica durante la HTA. Los niveles plasmáticos de TG y FFA en ratas obesas disminuyen en la reducción de la insulina. Estudios han demostrado que el diazóxido regula a la baja la actividad de la síntesis de ácidos grasos del tejido adiposo y el ARNm de la lipoproteína lipasa en ratas Zucker obesas con hiperglucemia leve (Guo *et al.* 2006).

A su vez, tanto el ejercicio, cómo el diazóxido, afectan las vías biosintéticas que requieren ATP, como la síntesis de colesterol o la biogénesis de las vesículas de transporte de VLDL, lo que también puede estar relacionado al daño oxidativo generalizado. Por lo tanto, la dislipidemia disminuida sería el resultado de los efectos que tienen el diazóxido y el ejercicio sobre la bioenergética y el estado redox celular (Tiwari y Siddiqi, 2012).

Literatura citada

Choudhury K. N., A. K. Mainuddin, M. Wahiduzzaman y S. M. Islam. (2014). Serum lipid profile and its association with hypertension in Bangladesh. *Vasc Health Risk Manag.* 10: 327-32.

Gou Z., S. Bu, Y. Yu, G. Ghatnekar, M. Wang, L. Chen, M. Bu, L. Yang, B. Zhu, Feng Z. y Q. Huang. (2008). Diazoxide prevents abdominal adiposity and fatty liver in obese OLETF rats at prediabetic stage. *J Diabetes Complications.* 22(1): 46-55.

Lin Y. Y. y S. D. Lee. (2018). Cardiovascular Benefits of Exercise Training in Postmenopausal Hypertension. *Int J Mol Sci.* 19(9): 2523.

Liu C., T. Guan, Y. Lai y Y. Shen. (2021). Association of KATP Gene Polymorphisms with Dyslipidemia and Ischemic Stroke Risks Among Hypertensive Patients in South China. *J Mol Neurosci.* 71(10): 2142-2151.

Ni J., K. L. Ma y C. X. WANG (2013). Activation of renin-angiotensin system is involved in dyslipidemia-mediated renal injuries in apolipoprotein E knockout mice and HK-2 cells. *Lipids Health Dis.* 12:49.

Paynter N. P., H. D. Sesso, D. Conen, J. D. Otvos y S. Mora. (2011). Lipoprotein subclass abnormalities and incident hypertension in initially healthy women. *Clin Chem.* 57(8): 1178:87

Tiwari S., S. A. Siddiqi. (2012). Intracellular trafficking and secretion of VLDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 5: 1079-1086.