



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Medicina Veterinaria

Unidad de Posgrado

**Biomarcadores de estrés oxidativo y expresión génica
relacionados a proinflamación y muerte celular en
cerebros de ratas expuestos a la hipoxia por altura**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Doctor en Medicina
Veterinaria

AUTOR

Boris Antonio LIRA MEJIA

ASESOR

Dra. Mariella RAMOS GONZALEZ

Lima, Perú

2025



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Lira B. Biomarcadores de estrés oxidativo y expresión génica relacionados a proinflamación y muerte celular en cerebros de ratas expuestos a la hipoxia por altura [Tesis de doctorado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Unidad de Posgrado; 2025.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Boris Antonio Lira Mejia
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	10131501
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-1497-3068
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Mariella Ramos Gonzalez
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	43068125
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-9990-4074
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Pedro Angulo Herrera
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	08517424
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Elydia Cornelia Mujica Alban
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07769567
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Omar Antonio Gonzales Viera
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	43910788
Número de documento de identidad	
Datos de investigación	

Línea de investigación	B.4.1.3. Fisiología Animal
Grupo de investigación	Grupo de investigación en fisiología y fisiopatología en animales de trópico y de altura - GIFATA
Agencia de financiamiento	Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Vicerrectorado de Investigación y Posgrado. Programa de Proyectos de Investigación para Grupos de Investigación. A21080631-PCONFIGI.
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Laboratorio de Fisiología Animal. País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: San Borja Calle: Av. Circunvalación cuadra 28 Latitud: -12.08091 Longitud: -76.98717
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2021 - 2024
URL de disciplinas OCDE	Fisiología https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.08



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Medicina Veterinaria
UNIDAD DE POSGRADO



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE
DOCTOR EN MEDICINA VETERINARIA**

En la Sala de Posgrado de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, siendo las 12:00 horas del día jueves 11 de diciembre del 2025, el Jurado Examinador de Tesis de Grado de Doctor, presidido por el Dr. Pedro Angulo Herrera y conformado por los siguientes miembros docentes: Dra. Elydia Cornelia Mujica Alban, Dr. Omar Antonio Gonzales Viera y la Dra. Mariella Ramos Gonzalez (asesora), se dio inicio a la sustentación oral y pública de la Tesis titulada:

“BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO Y EXPRESIÓN GÉNICA RELACIONADOS A PROINFLAMACIÓN Y MUERTE CELULAR EN CEREBROS DE RATAS EXPUESTOS A LA HIPOXIA POR ALTURA”, presentado por el magíster:

BORIS ANTONIO LIRA MEJIA

Quien sustentó la Tesis para obtener el grado académico de Doctor en Medicina Veterinaria y absolvió satisfactoriamente las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado y practicada la votación obtuvo la calificación de: **EXCELENTE, (19) DIECINUEVE**_____

A continuación, el Jurado por intermedio de su Presidente recomendó a la Unidad de Posgrado de la Facultad de Medicina Veterinaria, proponga el otorgamiento del grado académico de Doctor en Medicina Veterinaria, al magíster Boris Antonio Lira Mejia.

Siendo las 13:43 horas del día jueves 11 de diciembre de 2025, se dio por concluido el acto académico, suscribiéndose la presente Acta.

Dr. Pedro Angulo Herrera (P.P.T.C.)
Presidente

Dra. Elydia Cornelia Mujica Alban (P.P.D.E.)
Miembro

Dr. Omar Antonio Gonzales Viera
Miembro

Dra. Mariella Ramos Gonzalez (P.A.T.C.)
Miembro Asesor

Dr. César Miguel Gavidia Chucán (P.P.D.E.)
Director de la Unidad de Posgrado





Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Vicerrectorado de Investigación y Posgrado



CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, Mariella Ramos Gonzalez en mi condición de asesora acreditado con el Dictamen N°036-UPG-FMV-2025 de la tesis, cuyo título es **“Biomarcadores de estrés oxidativo y expresión génica relacionados a proinflamación y muerte celular en cerebros de ratas expuestos a la hipoxia por altura”**, presentado por el magister Boris Antonio Lira Mejia para optar el grado de Doctor en Medicina Veterinaria.

CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante la plataforma PIDS, el documento evaluado cuenta con el 12% de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional**.

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del grado académico de Doctor en Medicina Veterinaria.

Lima, 29 de diciembre de 2025



UNMSM

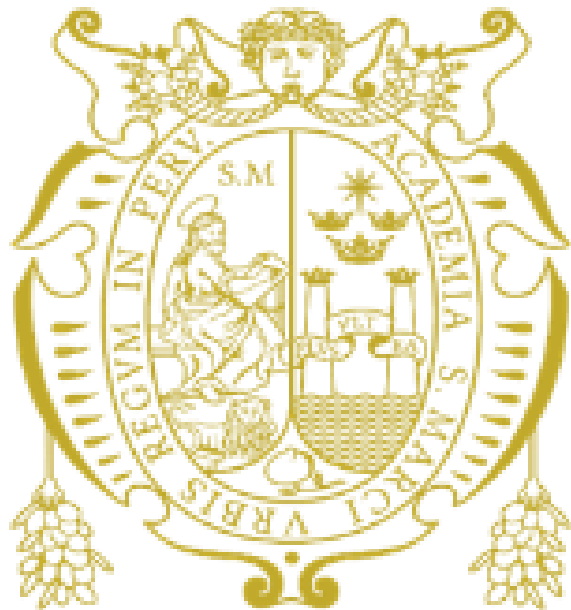
Firmado digitalmente por RAMOS
GONZALEZ Mariella FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 29.12.2025 20:25:05 -05:00

Firma del Asesor:

Nombres y Apellidos del asesor: Mariella Ramos Gonzalez

DNI: 43068125

La vigencia del presente certificado corresponde a un periodo de noventa (90) días desde la fecha de su emisión; siempre que no haya observaciones en el texto durante el proceso de revisión por el jurado informante o surja alguna contingencia.



DEDICATORIA

A mis padres Antonio[†] y Carmen[†], quienes siempre me apoyaron y desde el cielo continúan guiando mi camino.

A Eva, Luana y Marcelo, por ser mi motor cada día de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesora de tesis Dra. Mariella Ramos, por su apoyo en la culminación de este trabajo.

Al Dr. Jose Rodriguez Gutierrez, por su amistad, motivación y confianza para el desarrollo, ejecución y culminación de este trabajo.

A Christian Medina, Roger Calderón, Jorge Ordaya, quienes participaron en la ejecución de la parte experimental de este trabajo.

A los docentes del laboratorio de Fisiología Animal, por el constante apoyo durante la ejecución de este trabajo.

A la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por el financiamiento (Proyecto A21080631-PCONFIGI)

Índice de contenido

Lista de cuadros.....	v
Lista de figuras.....	vi
Lista de abreviaturas.....	xv
RESUMEN.....	xvii
ABSTRACT.....	xviii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	
2.1.La enfermedad de las alturas y las condiciones ambientales en la altitud...	5
2.2.Respuesta fisiológica animal a la altura.....	7
2.3.Proceso fisiopatológico por exposición a la altitud.....	9
2.3.1. Síndrome pulmonar: edema pulmonar de gran altitud (HAPE).....	11
2.3.2. Síndrome cerebral: mal de montaña agudo / edema cerebral de gran altitud (AMS/HACE).....	12
2.4.Reportes del efecto de la hipoxia hipobárica en condiciones experimentales.....	14
2.5.Efecto de la hipoxia sobre el sistema nervioso central.....	15
2.5.1. Fisiología y puntos anatómicos del cerebro.....	18
2.5.1.1.Hipotálamo.....	19
2.5.1.2.Corteza frontal.....	23
2.5.1.3.Cuerpo estriado.....	23
2.5.1.4.Hipocampo.....	26
2.5.2. Efecto de la hipoxia hipobárica a nivel de la neurona	
2.5.2.1.Metabolismo celular del sistema nervioso.....	27
2.5.2.2.Sensores de oxígeno.....	28
2.5.2.3.Regulación del factor de transcripción inducible por hipoxia.....	29
2.5.2.4.Proteína quinasa B.....	30
2.5.2.5.Eritropoyetina.....	30
2.5.3. Biomarcadores de estrés oxidativo	
2.5.3.1.Especies reactivas de oxígeno (ROS) e hipoxia.....	31
2.5.3.2.Enzimas antioxidantes e hipoxia.....	35
2.5.3.3.Estrés oxidativo y apoptosis neuronal en hipoxia.....	37
2.5.4. Biomarcadores del complejo inflamatoria e hipoxia.....	39
2.5.5. Biomarcadores de muerte celular e hipoxia.....	41
III. MATERIALES Y METODOS	
3.1.Lugar y periodo de ejecución.....	42
3.2.Descripción del material experimental.....	43
3.3.Diseño experimental u observacional.....	44
3.4.Toma de muestras.....	46
3.5.Ensayos de fluorescencia	
3.5.1. Metodología del ensayo de estrés oxidativo (ROS).....	47
3.6.Ensayos colorimétricos	
3.6.1. Metodología del ensayo de peroxidación lipídica para la determinación de malondialdeído (MDA).....	49
3.7.Ensayos enzimáticos	
3.7.1. Metodología del ensayo de la actividad de la enzima catalasa (CAT)..	51
3.7.2. Metodología del ensayo de la actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD).....	53

3.8.Ensayo molecular	
3.8.1. Elaboración de primers.....	56
3.8.2. Extracción de RNA total.....	57
3.8.3. Síntesis de cDNA.....	57
3.8.4. qPCR cuantitativa.....	58
3.9.Análisis estadístico.....	60
IV. RESULTADOS	
4.1.Evaluación de la producción de ROS en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental	
4.1.1. Producción de ROS en hipotálamo.....	61
4.1.2. Producción de ROS en corteza frontal.....	62
4.1.3. Producción de ROS en hipocampo.....	63
4.1.4. Producción de ROS en cuerpo estriado.....	64
4.2.Evaluación de los niveles de MDA en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental	
4.2.1. Niveles de MDA en hipotálamo.....	65
4.2.2. Niveles de MDA en corteza frontal.....	66
4.2.3. Niveles de MDA en hipocampo.....	67
4.2.4. Niveles de MDA en cuerpo estriado.....	68
4.3.Evaluación de la actividad de la enzima catalasa en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental	
4.3.1. Actividad de la enzima catalasa en hipotálamo.....	69
4.3.2. Actividad de la enzima catalasa en corteza frontal.....	70
4.3.3. Actividad de la enzima catalasa en hipocampo.....	71
4.3.4. Actividad de la enzima catalasa en cuerpo estriado.....	72
4.4.Evaluación de la actividad de la enzima superóxido dismutasa en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental	
4.4.1. Actividad de la enzima superóxido dismutasa en hipotálamo.....	73
4.4.2. Actividad de la enzima superóxido dismutasa en corteza frontal.....	74
4.4.3. Actividad de la enzima superóxido dismutasa en hipocampo.....	75
4.4.4. Actividad de la enzima superóxido dismutasa en cuerpo estriado.....	76
4.5.Evaluación molecular de genes relacionados a estrés oxidativo en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental.....	77
4.6.Evaluación molecular de genes relacionados a muerte celular en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental.....	89
4.7.Evaluación molecular de genes relacionados a inflamación en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental.....	113
V. DISCUSIÓN.....	126
VI. CONCLUSIONES.....	135
VII. RECOMENDACIONES.....	137
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	139

Lista de cuadros

Cuadro 1.	Valores de presión barométrica, presión de oxígeno ambiental y presión de oxígeno inspirado a nivel del mar y a diferentes alturas.....	6
Cuadro 2.	Distribución de las ratas en los grupos C (170 m. s. n. m.) y en los grupos A1 (3151 m. s. n. m.) y los grupos A2 (4214 m. s. n. m.), estos dos últimos expuestos a la hipoxia de la altura.....	45
Cuadro 3.	Materiales y equipos de laboratorio utilizados para el desarrollo del ensayo de estrés oxidativo (ROS).....	48
Cuadro 4.	Materiales y equipos de laboratorio utilizados para el desarrollo del ensayo de peroxidación lipídica (MDA).....	50
Cuadro 5.	Materiales y equipos de laboratorio utilizados para el desarrollo del ensayo de la actividad enzimática de catalasa.....	52
Cuadro 6.	Materiales y equipos de laboratorio utilizados para el desarrollo del ensayo de la actividad enzimática de la superóxido dismutasa.....	55
Cuadro 7.	Secuencias sentido y antisentido de genes relacionados con el estrés oxidativo, la muerte celular y la inflamación de ratas.....	56
Cuadro 8.	Materiales y equipos de laboratorio utilizados para el desarrollo del ensayo molecular.....	59

Lista de figuras

Figura 1.	Relación de la altura y la presión barométrica con PaO ₂ , PIO ₂ y SaO ₂	6
Figura 2.	Mecanismos fisiopatológicos involucrados en el desarrollo del edema pulmonar de gran altitud (HAPE).....	12
Figura 3.	Mecanismos fisiopatológicos involucrados en el desarrollo del mal de montaña agudo (AMS) y el edema cerebral de gran altitud (HACE).....	14
Figura 4.	Regulación del factor transcripcional inducible por hipoxia.....	30
Figura 5.	Estrés oxidativo. Producción de radicales libres y sistema antioxidante.....	37
Figura 6.	Representación esquemática de los eventos de la apoptosis.....	39
Figura 7.	Localidades en la región Lima donde se desarrolló el estudio. A. Ubicación geográfica de la FMV-UNMSM (170 m. s. n. m.). B. Distrito Ayauca (3151 m. s. n. m.). C. Distrito de Casapalca (4214 m. s. n. m.).....	43
Figura 8.	Crianza de ratas en jaulas de plástico utilizando estufas y termómetros ambientales para mantener la temperatura en el rango de 20 ± 2°C.....	44
Figura 9.	Tiempo de exposición ambiental y días en que se tomaron las muestras de cerebro de ratas en el grupo control (nivel del mar) y en los grupos expuestos a elevada altitud (3151 m. s. n. m.) y gran altitud (4214 m. s. n. m.).....	46
Figura 10.	Representación esquemática de las cuatro regiones cerebrales de ratas a estudiar: hipotálamo (ht), corteza frontal (cf), hipocampo (hc) y cuerpo estriado (ce). (A) vista dorsal del cerebro, (B) vista ventral del cerebro, (C) vista dorsal con disección de la corteza cerebral.....	47
Figura 11.	Flujograma de la disección y toma de muestras de las regiones cerebrales para su transporte y análisis en laboratorio. Las regiones cerebrales fueron diseccionadas en frío (4°C) y almacenadas	

	inmediatamente (-80 °C) para su posterior análisis enzimático y molecular.....	47
Figura 12.	Flujograma del ensayo de fluorescencia para la detección de ROS en hipotálamo, corteza frontal, hipocampo y cuerpo estriado de ratas. Se utilizó la sonda fluorescente DCFH-DA para la detección de ROS intracelular.....	49
Figura 13.	Flujograma del ensayo de peroxidación lipídica para la determinación de MDA en hipotálamo, corteza frontal, hipocampo y cuerpo estriado de ratas. Se utilizó la reacción TBRAS para determinar los niveles de MDA celulares.....	50
Figura 14.	Flujograma del ensayo para la determinación de la actividad enzimática de la catalasa en hipotálamo, corteza frontal, hipocampo y cuerpo estriado de ratas.....	53
Figura 15.	Flujograma del ensayo para la determinación de la actividad enzimática de la superóxido dismutasa en hipotálamo, corteza frontal, hipocampo y cuerpo estriado de ratas.....	55
Figura 16.	Flujograma del ensayo molecular involucrado en la cuantificación de expresión génica en hipotálamo, corteza frontal, hipocampo y cuerpo estriado de ratas. Se utilizó la PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR).....	59
Figura 17.	Producción de ROS en hipotálamo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	62
Figura 18.	Producción de ROS en corteza frontal de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	63
Figura 19.	Producción de ROS en hipocampo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	64
Figura 20.	Producción de ROS en cuerpo estriado de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	65

Figura 21.	Niveles de MDA en hipotálamo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	66
Figura 22.	Niveles de MDA en corteza frontal de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	67
Figura 23.	Niveles de MDA en hipocampo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	68
Figura 24.	Niveles de MDA en cuerpo estriado de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	69
Figura 25.	Actividad de la enzima catalasa en hipotálamo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	70
Figura 26.	Actividad de la enzima catalasa en corteza frontal de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	71
Figura 27.	Actividad de la enzima catalasa en hipocampo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	72
Figura 28.	Actividad de la enzima catalasa en cuerpo estriado de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	73
Figura 29.	Actividad de la enzima SOD en hipotálamo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	74
Figura 30.	Actividad de la enzima SOD en corteza frontal de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	75
Figura 31.	Actividad de la enzima SOD en hipocampo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	76

Figura 32.	Actividad de la enzima SOD en cuerpo estriado de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	77
Figura 33.	Expresión molecular de <i>SOD2</i> en hipotálamo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	78
Figura 34.	Expresión molecular de <i>SOD2</i> en corteza frontal de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	79
Figura 35.	Expresión molecular de <i>SOD2</i> en hipocampo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	80
Figura 36.	Expresión molecular de <i>SOD2</i> en cuerpo estriado de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	81
Figura 37.	Expresión molecular de <i>NRF2</i> en hipotálamo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	82
Figura 38.	Expresión molecular de <i>NRF2</i> en corteza frontal de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	83
Figura 39.	Expresión molecular de <i>NRF2</i> en hipocampo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	84
Figura 40.	Expresión molecular de <i>NRF2</i> en cuerpo estriado de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	85
Figura 41.	Expresión molecular de <i>GPx1</i> en hipotálamo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	86
Figura 42.	Expresión molecular de <i>GPx1</i> en corteza frontal de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	87

Figura 43.	Expresión molecular de <i>GPx1</i> en hipocampo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	88
Figura 44.	Expresión molecular de <i>GPx</i> en cuerpo estriado de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	89
Figura 45.	Expresión molecular de <i>BAX</i> en hipotálamo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	90
Figura 46.	Expresión molecular de <i>BAX</i> en corteza frontal de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	91
Figura 47.	Expresión molecular de <i>BAX</i> en hipocampo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	92
Figura 48.	Expresión molecular de <i>BAX</i> en cuerpo estriado de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	93
Figura 49.	Expresión molecular de <i>BCL2</i> en hipotálamo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	94
Figura 50.	Expresión molecular de <i>BCL2</i> en corteza frontal de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	95
Figura 51.	Expresión molecular de <i>BCL2</i> en hipocampo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	96
Figura 52.	Expresión molecular de <i>BCL2</i> en cuerpo estriado de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	97
Figura 53.	Expresión molecular de <i>CASP3</i> en hipotálamo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	98

Figura 54.	Expresión molecular de <i>CASP3</i> en corteza frontal de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días...	99
Figura 55.	Expresión molecular de <i>CASP3</i> en hipocampo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	100
Figura 56.	Expresión molecular de <i>CASP3</i> en cuerpo estriado de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días....	101
Figura 57.	Expresión molecular de <i>BNIP3</i> en hipotálamo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	102
Figura 58.	Expresión molecular de <i>BNIP3</i> en corteza frontal de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días...	103
Figura 59.	Expresión molecular de <i>BNIP3</i> en hipocampo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	104
Figura 60.	Expresión molecular de <i>BNIP3</i> en cuerpo estriado de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días....	105
Figura 61.	Expresión molecular de <i>AKT1</i> en hipotálamo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	106
Figura 62.	Expresión molecular de <i>AKT1</i> en corteza frontal de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días....	107
Figura 63.	Expresión molecular de <i>AKT1</i> en hipocampo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	108
Figura 64.	Expresión molecular de <i>AKT1</i> en cuerpo estriado de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días....	109

Figura 65.	Expresión molecular de <i>APAF-1</i> en hipotálamo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	110
Figura 66.	Expresión molecular de <i>APAF-1</i> en corteza frontal de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días....	111
Figura 67.	Expresión molecular de <i>APAF-1</i> en hipocampo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	112
Figura 68.	Expresión molecular de <i>APAF-1</i> en cuerpo estriado de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días....	113
Figura 69.	Expresión molecular de <i>NF-κB</i> en hipotálamo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	114
Figura 70.	Expresión molecular de <i>NF-κB</i> en corteza frontal de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días....	115
Figura 71.	Expresión molecular de <i>NF-κB</i> en hipocampo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	116
Figura 72.	Expresión molecular de <i>NF-κB</i> en cuerpo estriado de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días....	117
Figura 73.	Expresión molecular de <i>TNF-α</i> en hipotálamo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	118
Figura 74.	Expresión molecular de <i>TNF-α</i> en corteza frontal de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días....	119
Figura 75.	Expresión molecular de <i>TNF-α</i> en hipocampo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	120

Figura 76.	Expresión molecular de <i>TNF-α</i> en cuerpo estriado de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días....	121
Figura 77.	Expresión molecular de <i>COX-2</i> en hipotálamo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m. m) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	122
Figura 78.	Expresión molecular de <i>COX-2</i> en corteza frontal de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días....	123
Figura 79.	Expresión molecular de <i>COX-2</i> en hipocampo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días.....	124
Figura 80.	Expresión molecular de <i>COX-2</i> en cuerpo estriado de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días....	125

Lista de abreviaturas

ACTH	hormona adrenocorticotrópica
ADH	hormona antidiurética
AMS	acute montain sickness (Mal agudo de montaña)
APAF-1	factor activador de proteasas apoptóticas 1
ATP	adenosin trifosfato
BAX	proteína X asociada a BCL-2
BCL-2	Linfoma de células B2
Bcl-xL	proteína 1 similar a Bcl-2
BHE	barrera hematoencefálica
BNIP3	proteína 3 interactuante con BCL2
CAT	catalasa
COX-2	ciclooxigenasa 2
DMSO	dimetil-sulfóxido
FSH	hormona folículo estimulante
HACE	high altitude cerebral edema (Edema cerebral de gran altitud)
HAPE	high altitude pulmonar edema (Edema pulmonar de gran altitud)
HIF	factor inducible por hipoxia
HPA	eje hipotálamo-hipófisis-adrenal
HPVR	respuesta a la hipoxia alveolar
IL-1 β	interleucina 1 beta
IL-6	interleucina 6
I κ B α	inhibidor kappa B alfa

MAPK	proteínas quinasas activadas por mitógenos
MDA	malondialdehído
mmHg	milímetros de mercurio
m.s.n.m.	metros sobre el nivel mar
NF- κ B	factor de transcripción kappa B
PAO ₂	PO ₂ alveolar
PaO ₂	PO ₂ en sangre arterial
PIO ₂	PO ₂ inspirado
PO ₂	presión de O ₂ en el aire
ROS	especies reactivas de oxígeno
RVH	respuesta ventilatoria hipóxica
RVHP	respuesta vasoconstrictora hipóxica pulmonar
SaO ₂	saturación de O ₂ (%)
SOD	superóxido dismutasa
SpO ₂	saturación de oxígeno en sangre
TNF- α	factor de necrosis tumoral alfa
TRH	hormona liberadora de tirotrópina
V/Q:	relación ventilación-perfusión

RESUMEN

La hipoxia ambiental a altitudes superiores a los 3000 metros desencadena mecanismos para mantener la homeostasia del organismo. Sin embargo, en ocasiones ocurre alteraciones en órganos metabólicamente activos como el cerebro. Muchas de las alteraciones celulares inducidas por la hipoxia están asociadas con la generación excesiva de especies reactivas del oxígeno (ROS) y el estrés oxidativo resultante. El objetivo del estudio fue evaluar los efectos del tiempo de exposición en diferentes altitudes, tanto a 3151 m.s.n.m. (elevada altitud) y 4214 m.s.n.m. (gran altitud), sobre la homeostasis oxidativa en regiones cerebrales como el hipotálamo, la corteza frontal, el hipocampo y el cuerpo estriado de ratas. Se evaluó la producción de ROS, los niveles de malondialdehído (MDA), las actividades antioxidantes de la superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa (CAT), así como biomarcadores moleculares de estrés oxidativo, muerte celular e inflamación. Los resultados demuestran que los niveles de ROS, MDA y SOD aumentan en todas las regiones estudiadas del cerebro, especialmente en respuesta a la exposición de la hipoxia de gran altitud (4154 m). Por el contrario, la actividad de la CAT disminuyó en las mismas condiciones. A nivel molecular, observamos una sobreexpresión de biomarcadores clave relacionados al estrés oxidativo, muerte celular e inflamación, especialmente en respuesta a la exposición de la hipoxia de gran altitud (4154 m). Además, estos efectos fueron más pronunciados en la corteza frontal, el hipocampo y el cuerpo estriado. En conclusión, nuestros datos indican que el tiempo de exposición a la hipoxia a altitudes elevadas hasta los 28 días, contribuye significativamente a la alteración oxidativa de la homeostasis cerebral en ratas.

Palabras clave: altitud, hipoxia, regiones cerebrales, enzimas antioxidantes, duración de la exposición, estrés oxidativo, neuroinflamación.

ABSTRACT

Environmental hypoxia at altitudes above 3000 meters triggers mechanisms to maintain homeostasis in the body. However, alterations sometimes occur in metabolically active organs such as the brain. Many of the cellular alterations induced by hypoxia are associated with excessive generation of reactive oxygen species (ROS) and the resulting oxidative stress. The objective of the study was to evaluate the effects of exposure time at different altitudes, both at 3151 meters above sea level (high altitude) and 4214 meters above sea level (very high altitude), on oxidative homeostasis in brain regions such as the hypothalamus, frontal cortex, hippocampus, and striatum of rats. ROS production, malondialdehyde (MDA) levels, superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) antioxidant activities, as well as molecular biomarkers of oxidative stress, cell death, and inflammation were evaluated. The results show that ROS, MDA, and SOD levels increase in all regions of the brain studied, especially in response to exposure to very high altitude hypoxia (4154 m). In contrast, CAT activity decreased under the same conditions. At the molecular level, we observed an overexpression of key biomarkers related to oxidative stress, cell death, and inflammation, especially in response to exposure to very high altitude hypoxia (4154 m). Furthermore, these effects were more pronounced in the frontal cortex, hippocampus, and striatum. In conclusion, our data indicate that exposure to hypoxia at high altitudes for up to 28 days contributes significantly to oxidative disruption of brain homeostasis in rats.

Keywords: High altitude; hypoxia; brain regions; antioxidant enzymes; exposure duration; oxidative stress; neuroinflammation

I. INTRODUCCIÓN

El oxígeno es esencial para mantener la homeostasis celular y la función de los órganos, especialmente en tejidos con grandes exigencias metabólicas, como el cerebro. Este al tener elevadas necesidades energéticas y a su limitada capacidad para el metabolismo anaeróbico es vulnerable en condiciones de hipoxia, ocasionando rápido deterioro de la integridad y la función neuronal (Mukandala *et al.*, 2016).

La hipoxia, definida como una deficiencia en la cantidad de oxígeno que llega a los tejidos, es un factor de estrés fisiológico común a altitudes por encima de los 3000 metros, donde la presión parcial de oxígeno disminuye significativamente (Sarkar *et al.*, 2003). Esta disminución de la disponibilidad de oxígeno desencadena una cascada de adaptaciones fisiológicas y moleculares destinadas a preservar el suministro de oxígeno y la función celular (Li *et al.*, 2025) como una forma de compensación a corto plazo; sin embargo, estos mecanismos compensatorios suelen ser insuficientes para contrarrestar todos los efectos nocivos de la privación de oxígeno, especialmente durante una exposición aguda o prolongada (Maiti *et al.*, 2006; Pena *et al.*, 2022).

La hipoxia a altitudes superiores a los 3000 m.s.n.m., supone una grave amenaza para la homeostasis sistémica, siendo el cerebro uno de los órganos más susceptibles (Maiti *et al.*, 2006). Los efectos fisiopatológicos de la hipoxia en el cerebro son multifactoriales e implican alteraciones en el flujo sanguíneo cerebral, trastornos en el metabolismo energético y, lo que es más grave, la inducción de estrés oxidativo (Li *et al.*, 2025). El estrés oxidativo surge cuando la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS)

supera la capacidad de las defensas antioxidantes endógenas como es la actividad de las enzimas antioxidantes, en particular la superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa (CAT) (Maiti *et al.*, 2006)., lo que provoca daños en las macromoléculas celulares y la activación de vías de señalización proinflamatorias y proapoptóticas (Maiti *et al.*, 2006; Pena *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2025); a través de la sobreexpresión de genes implicados, lo que contribuye a la vulnerabilidad neuronal y a la patogénesis de trastornos neurológicos agudos y crónicos (Banasiak *et al.*, 2000; Li *et al.*, 2025).

Cada vez hay más pruebas que indican que la exposición a grandes altitudes aumenta la generación de ROS y favorece la acumulación de biomarcadores de estrés oxidativo, como MDA, en el cerebro (Maiti *et al.*, 2006; Coimbra-Costa *et al.*, 2017; Pena *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2025). Estas alteraciones se han observado en el hipotálamo, corteza, hipocampo y el cuerpo estriado (Maiti *et al.*, 2006; Coimbra-Costa *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2022). Los niveles elevados de MDA, un biomarcador de la peroxidación lipídica, reflejan aún más el alcance del daño oxidativo en condiciones de hipoxia (Maiti *et al.*, 2006; Ionescu *et al.*, 2025).

Los mecanismos moleculares que subyacen a la lesión neuronal inducida por hipoxia incluyen vías tanto necróticas como apoptóticas, y la pérdida del equilibrio entre una mayor expresión de genes proapoptóticos comparado con los antiapoptóticos influye en el destino celular (Banasiak *et al.*, 2000; Cui *et al.*, 2024). Las condiciones hipóxicas pueden inducir la sobreexpresión de BAX, un miembro proapoptótico de la familia de proteínas Bcl-2 que facilita la permeabilización de la membrana mitocondrial externa y la posterior liberación de citocromo c al citosol (Gross *et al.*, 1999). El citocromo c liberado interactúa con APAF-1 (factor activador de proteasas apoptóticas 1) y ATP para formar el apoptosoma, un complejo multiproteico que recluta y activa la procaspasa-9. La caspasa-9 activada posteriormente escinde y activa la caspasa-3, una caspasa ejecutora crítica que degrada sustratos celulares estructurales y reguladores esenciales (Li *et al.*, 1997), así como la activación de algunas citocinas inflamatorias como Il-18, Il-1 β , escindiendo su forma inactiva.

El estrés hipóxico también regula al alza la expresión de BNIP3, una proteína proapoptótica y mitofágica bajo el control transcripcional del factor inducible por hipoxia

(HIF-1) que interrumpe las interacciones antiapoptóticas Bcl-2/Bcl-xL y contribuye a la disipación del potencial de la membrana mitocondrial (Zhang y Ney, 2009). Por lo tanto, la hipoxia ambiental integra las vías de señalización mitocondriales y citosólicas para coordinar la activación de BAX, BNIP3, APAF-1 y caspasa-3 dentro de un eje apoptótico funcional que impulsa la muerte celular programada y la remodelación tisular en condiciones de estrés hipóxico sostenido.

Adicionalmente, la hipoxia ambiental promueve la activación de la vía NF- κ B e induce la expresión de genes inflamatorios tales como TNF- α , IL-6, IL-1 β y COX-2. En concreto, la exposición a la hipoxia aumenta significativamente la expresión de COX-2, tanto *in vivo* como *in vitro* en sistemas de cultivos celulares. En condiciones de hipoxia, las células muestran una activación lenta pero sostenida de NF- κ B a través de la degradación de I κ B α , lo que posteriormente induce la transcripción de IL-6. Este proceso de activación depende de las ROS, como lo demuestra su inhibición en presencia de antioxidantes. Además, estudios realizados con células endoteliales humanas han confirmado que la expresión de COX-2 inducida por la hipoxia está mediada directamente por NF- κ B p65, que se une a la región promotora de COX-2, reforzando así el papel central de esta vía en la coordinación de las respuestas inflamatorias. Además, se ha documentado que el TNF- α es un potente activador del NF- κ B, creando un bucle de retroalimentación positiva que amplifica la cascada inflamatoria. En conjunto, estos eventos moleculares constituyen una respuesta inflamatoria adaptativa a la hipoxia ambiental, mediada por una red reguladora centrada en el NF- κ B que coordina la expresión de citocinas y enzimas proinflamatorias (Muraoka *et al.*, 1997; Schmedtje *et al.*, 1997; Fitzpatrick *et al.*, 2011).

Por otro lado, la hipoxia activa vías de señalización intracelulares como la cascada de proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK), que modula la defensa antioxidante, el metabolismo y la muerte celular (Cui *et al.*, 2024). El HIF-1 α también desempeña un papel central en la adaptación celular a la privación de oxígeno mediante la regulación de genes implicados en la reprogramación metabólica (Basheeruddin y Qausain, 2024), la inflamación (Puchowicz *et al.*, 2023) y la supervivencia celular (Ostrowski y Zhang, 2020). Además, la neuroinflamación, impulsada por la activación microglial y la liberación de citocinas proinflamatorias como el TNF- α y la IL-1 β , puede agravar aún

más el daño neuronal y alterar la barrera hematoencefálica (BHE) en condiciones de hipoxia (Mukandala *et al.*, 2016; Guo y Zhu, 2021).

A pesar del creciente reconocimiento del estrés oxidativo como mediador clave de la lesión cerebral inducida por hipoxia, las contribuciones específicas del nivel de altitud y la duración de la exposición a estos eventos moleculares siguen sin entenderse bien (Aboouf *et al.*, 2023). Si bien estudios previos sugieren que ambos factores influyen en las respuestas oxidativas, las evaluaciones exhaustivas en distintas regiones del cerebro siguen siendo limitadas (Maiti *et al.*, 2006). Además, la especificidad regional de las defensas antioxidantes y la interacción entre las vías oxidativas e inflamatorias requieren más investigación para identificar objetivos eficaces para la neuroprotección (Maiti *et al.*, 2006; Cui *et al.*, 2024; Ionescu *et al.*, 2025).

Este estudio tiene como objetivo abordar estos vacíos mediante el análisis sistemático de los efectos de la duración de la exposición y el nivel de altitud sobre los marcadores de estrés oxidativo en regiones clave del cerebro de ratas de experimentación. Evaluamos la producción de ROS, los niveles de MDA, las actividades enzimáticas de la SOD y CAT; así como la expresión de marcadores moleculares relacionados con el estrés oxidativo, la inflamación y la apoptosis en el hipotálamo, la corteza, el hipocampo y el cuerpo estriado. Al caracterizar la dinámica espacial y temporal de las respuestas oxidativas en condiciones de hipoxia, este trabajo tiene como objetivo avanzar en nuestra comprensión de la lesión cerebral inducida por la altitud y servir de base para futuras estrategias neuroprotectoras para contrarrestar los procesos oxidantes e inflamatorios.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. La enfermedad de las alturas y las condiciones ambientales en la altitud

La “enfermedad de las alturas” ocurre cuando las personas o animales se movilizan en pocas horas de las llanuras a las alturas, como por ejemplo cuando ascienden al volcán Fuji en Japón, Monte Blanc desde el lado francés, Monte Everest y también a los Andes en Sudamérica, como ocurre al viajar a Cuzco (Hartman *et al.*, 2016). La “enfermedad de las alturas” se debe a la hipoxia de la altura que es el resultado directo de la caída exponencial de la presión barométrica cuando se asciende desde el nivel del mar. La concentración relativa de oxígeno (O_2) en la tropósfera es constante (20.93%), por lo que la presión de O_2 en el aire (PO_2) se obtiene multiplicando 0.2093 por la correspondiente presión atmosférica, según se detalla en el Cuadro 1; es decir, la presión parcial de O_2 es de 149 mmHg a nivel del mar y a una altitud de 4000 m.s.n.m. disminuye a 86.4 mmHg, que es equivalente a respirar una mezcla de gas de 12% en vez de 21% de O_2 (Hackett y Roach, 2001b; Hartman *et al.*, 2016). Como consecuencia de la hipoxia hipobárica, se genera hipoxemia que consiste en una disminución en la PO_2 inspirada (PIO_2), PO_2 alveolar (PAO_2), PO_2 en sangre arterial (PaO_2) y en la saturación de oxígeno arterial (SaO_2). Esta hipoxemia ocasionada por la hipoxia hipobárica, depende de factores intrínsecos como la hiperventilación compensatoria, función pulmonar y la afinidad del O_2 por la hemoglobina (Hackett y Roach, 2001b) (Figura 1).

Cuadro 1. Valores de presión barométrica, presión de oxígeno ambiental y presión de oxígeno inspirado a nivel del mar y a diferentes alturas

Altura		Presión barométrica (mm Hg)	PO ₂ ambiente (mm Hg)	PIO ₂ (mm Hg)
(m)	(ft)			
0	0	759.6	159.1	149.1
1000	3281	678.7	141.2	132.2
2000	6562	604.5	124.9	116.7
3000	9843	536.9	110.1	102.5
4000	13,123	475.4	96.9	89.7
5000	16,404	419.7	84.8	78.0
6000	19,685	369.4	79.1	67.5
7000	22,966	324.2	67.8	58.0
8000	26,247	283.7	59.3	49.5
8850	29,035	252.7	52.9	43.1

Leyenda: PO₂, presión de O₂ en el aire; PIO₂, PO₂ inspirado; mmHg, milímetros de mercurio. Adaptado de Hackett y Roach, 2001b.

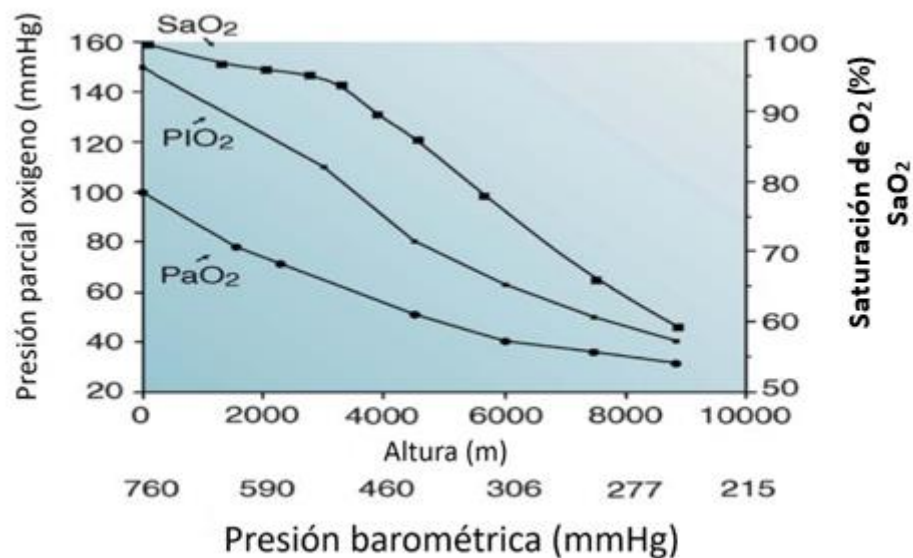


Figura 1. Relación de la altura y la presión barométrica con PaO₂, PIO₂ y SaO₂.

Adaptado de Hackett y Roach, 2001b.

Hay tres enfermedades relacionadas con la exposición aguda a la hipoxia de la altura que se desarrollan durante horas o días: mal agudo de montaña (Acute mountain sickness, AMS), edema cerebral de gran altitud (High altitude cerebral edema, HACE) y edema

pulmonar de gran altitud (High altitude pulmonary edema, HAPE) (Hackett y Roach, 2001a). El AMS no es fatal, mientras que el HAPE y el HACE sí lo son, si no hay un pronto tratamiento. Afortunadamente, el HAPE y el HACE no son comunes comparándolos con el AMS. Estas características fueron evidenciadas por Chen *et al.* (2013) que evaluaron a 339 adultos voluntarios que vivían a nivel del mar y ascendieron a 3200 m.s.n.m. en 48 horas, encontrando que 58 desarrollaron AMS (score AMS-Lake Louise), 2 desarrollaron HAPE y ninguno desarrolló HACE (Kurtzman y Caruso, 2018).

Por otro lado, a medida que aumenta la altitud la temperatura disminuye, esto se debe a diversos factores, entre los que destaca la presión atmosférica y el contenido de vapor de agua. Por cada 1000 metros de ascenso, la temperatura disminuye en una media de 6.5 °C; cuanto mayor sea la presión atmosférica, mayor será la temperatura ambiental. Como la presión atmosférica es máxima a nivel del mar, las temperaturas más altas se observan generalmente a nivel del mar. Además de la presión atmosférica, otro factor determinante que cambia la temperatura con la altitud es la forma en que se calienta la atmósfera. La atmósfera se calienta principalmente por la superficie terrestre, la radiación solar de onda corta entrante calienta la superficie terrestre y que a su vez emite radiación térmica de onda larga a la atmósfera superior. Cuanto mayor vapor de agua contenga la atmósfera (humedad), más radiación térmica puede absorber y por tanto, mayor radiación se irradia a la superficie terrestre. A medida que aumenta la altitud disminuye el contenido de vapor de agua por la menor presión atmosférica, por lo que a mayor altitud disminuye la capacidad de la atmósfera de absorber la radiación térmica y devolverla a la superficie terrestre. En consecuencia, al aumentar la altitud, la atmósfera se vuelve más permeable al calor irradiado desde la superficie de la Tierra, y el calor no se absorbe, sino se pierde de la atmósfera y se disipa en el espacio (Oficina Federal de Meteorología y Climatología MeteoSwiss, 2025).

2.2. Respuesta fisiológica animal a la altura

Los seres humanos y los animales son capaces de adaptarse a condiciones medioambientales de reducido contenido de O₂, lo que se denomina aclimatación. La aclimatación implica los mecanismos que se activan para minimizar la hipoxemia y mantener la función celular (Hackett y Roach, 2001a). Sin embargo, estos mecanismos compensatorios son limitados y algunos individuos se aclimatan fácilmente, mientras que

otros requieren una aclimatación lenta que consiste en ascensos y descensos repetidos. Entre los factores limitantes de la aclimatación podemos encontrar a las afecciones cardiovasculares y respiratorias. Se ha propuesto que la mayoría de personas pueden aclimatarse hasta las altitudes de los 5500 m.s.n.m, y por encima de esta elevación, ocurre un deterioro progresivo que supera la capacidad de compensación del organismo a nivel fisiológico, celular y molecular (Hackett y Roach, 2001a). Entre estos mecanismos tenemos:

A nivel celular, el responsable de la respuesta a la hipoxia es el factor inducible por hipoxia (HIF). Este HIF modula la expresión de genes responsables de la apoptosis, angiogénesis, metabolismo, proliferación celular y permeabilidad de la membrana celular. Aumenta la masa de hemoglobina y mejora la sensibilidad de los receptores en el seno carotídeo a la hipoxia en caso de hipoxia crónica. Este HIF se produce de manera continua, pero en condiciones de normoxia se destruye inmediatamente. Se cree que la capacidad de aclimatación depende genéticamente y en parte ocurre por la producción de HIF (Hartman *et al.*, 2016).

A nivel fisiológico, en la hipoxia hipobárica, ocurre el incremento de la ventilación, que es proporcional al grado de hipoxemia detectada en los quimiorreceptores periféricos (cuerpos carotídeos). Este mecanismo se denomina respuesta ventilatoria hipóxica (RVH) y es responsable de la disminución de la PCO_2 alveolar y el aumento equivalente de la PO_2 alveolar. Este aumento de la RVH (hiperventilación) ocurre hasta aproximadamente siete días, y da como resultado una alcalosis respiratoria. Debido a la alcalosis respiratoria, los quimiorreceptores centrales, ubicados en el tronco encefálico, limitan el aumento de la ventilación hasta que es compensada por una mayor eliminación renal de bicarbonato con la finalidad de mantener el pH sanguíneo. Cuando desaparece el efecto de la alcalosis que inhibe la ventilación, la hiperventilación aumenta. La reducción de la presión parcial de dióxido de carbono (CO_2) se asocia con un aumento de la presión parcial de O_2 y una mejor oxigenación, por lo que la hiperventilación es uno de los factores más importantes que aumentan la presión parcial de O_2 . La disminución de la PO_2 ocasiona un aumento en la actividad simpática, provocando tanto un aumento de la presión arterial, frecuencia cardíaca, gasto cardíaco como un aumento de la tensión de la pared (estrés de la pared) de los vasos sanguíneos. El volumen sistólico es menor debido a la reducción del volumen plasmático (disminuye aproximadamente en un 12% el primer

día) ocasionado por el desplazamiento de líquidos hacia el espacio extravascular y la supresión de la aldosterona. No se observa isquemia miocárdica y ocurre una pequeña reducción del volumen del ventrículo izquierdo y un ligero agrandamiento del ventrículo derecho. El aumento de la altitud y el esfuerzo se acompañan del aumento de la resistencia vascular pulmonar (Hackett y Roach, 2001b).

A nivel de la circulación pulmonar, la hipoxia alveolar ocasiona una vasoconstricción arteriolar pulmonar generalizada intrínseca, con un aumento de la presión arterial pulmonar que es independiente del aumento del gasto cardíaco que se denomina respuesta vasoconstrictora hipóxica pulmonar (RVHP). Inicialmente esta RVHP mejora la relación ventilación-perfusión (V/Q) ya que redistribuye el flujo sanguíneo a áreas pulmonares que no suelen estar bien perfundidas. (Schoene *et al.*, 2000).

A nivel hematológico, ayuda a incrementar la oxigenación a nivel arterial. Al inicio hay un incremento relativo de la hemoglobina ocasionado por la hemoconcentración de la diuresis y la contracción del volumen plasmático, por lo que el contenido de O₂ en la sangre aumenta rápidamente. A las pocas horas, la hipoxia induce la secreción de eritropoyetina y estimula la producción de glóbulos rojos a nivel de la médula ósea; sin embargo, se necesitan semanas para el incremento de la masa de glóbulos rojos. La hipoxemia también desplaza la curva de disociación de la hemoglobina hacia la derecha, lo que facilita la liberación de O₂ a los tejidos. El aumento de eritropoyetina ofrece poca o ninguna ventaja a corto plazo y, a largo plazo la policitemia tiene un papel en el desarrollo del mal de montaña crónico y la limitación del ejercicio a gran altitud (Semenza, 1994). Estas respuestas fisiológicas inician a exposiciones a la altura tan bajas como 2000 m.s.n.m., pero son insuficientes para permitir la aclimatación a altitudes extremas como 5486 m.s.n.m. o más (Hofmeyr *et al.*, 2017).

2.3. Proceso fisiopatológico por exposición a la altitud

La inadecuada aclimatación y la susceptibilidad a enfermedades de la altura varían marcadamente entre individuos y diferentes poblaciones de humanos, y especies animales. Esta variabilidad tiene una base genética y depende de diferencias intrínsecas anatómicas y fisiológicas siendo consideradas la RVH, la RVHP, la amortiguación del volumen intracraneal, la capacidad de eliminación de líquido alveolar, las respuestas

cerebrovasculares a la hipoxemia y el equilibrio hídrico. Además, incluyen condiciones ambientales, factores de comportamiento como la velocidad de ascenso a la altura y el uso de depresores ventilatorios y algunas enfermedades preexistentes que agravan la hipoxemia (Schoene *et al.*, 2000). En resumen, el resultado es una hipoxemia no compensada por la altitud, que son los precursores patogénicos de todas las formas de enfermedades de la altura (Hackett y Roach, 2001a).

Las patologías que ocurren en condiciones de altura son la consecuencia directa de la hipoxia hipobárica, siendo el factor más importante la rapidez de la hipoxia. Las enfermedades de la altura ocurren primariamente como signos neurológicos y edema pulmonar. En los síndromes cerebrales de las enfermedades de la altura (AMS/HACE), los signos se desarrollan continuamente, mientras que HAPE tienen mecanismos fisiopatológicos diferentes (Hartman *et al.*, 2016). Existen complejas interacciones entre los factores mecánicos inducida por hipoxia (elevada perfusión regional con elevada presión hidrostática) y bioquímicos (mediadores vasculares) que ocasionan un aumento de la permeabilidad capilar, tanto en la barrera hematoencefálica como la barrera alveolo-capilar, con el consecuente edema vasogénico a nivel cerebral (AMS/HACE) y a nivel pulmonar (HAPE). La incapacidad para compensar este edema en el cerebro (reducida capacidad de amortiguación de volumen intracraneal) o en los pulmones (deficiente transporte de líquido alveolar transepitelial) puede manifestarse clínicamente como AMS / HACE o HAPE, respectivamente (Hackett *et al.*, 2019; Woods y Alcock, 2021).

La hipoxemia no es la causa directa de las enfermedades de la altura, pero es el factor que activa una serie de mecanismos fisiopatológicos. La hipoxia cerebral, el incremento del flujo sanguíneo cerebral y el incremento de la permeabilidad endotelial vascular resultan en un edema cerebral angiogénico (Peppiatt *et al.*, 2006). El incremento en la resistencia vascular pulmonar ocasiona hipertensión pulmonar que se agrava secundariamente por la baja temperatura del medio ambiente y el esfuerzo físico. Estos factores, junto con la activación del sistema nervioso simpático y la liberación de catecolaminas lleva a un daño endotelial y la transferencia de fluido dentro del espacio alveolar, que causa daño en los mecanismos de transporte de sodio transmembrana empeorando la limpieza alveolar y ocasionando edema pulmonar. Generalmente, en caso no haya una aclimatación previa a la altura ocurre AMS, esta primera fase de la afección

no pone en peligro la vida directamente; sin embargo, cuando es prolongada puede provocar afecciones potencialmente letales como son HAPE y HACE (Hartman *et al.*, 2016).

2.3.1. Síndrome pulmonar: edema pulmonar de gran altitud (HAPE)

El HAPE es una forma de edema pulmonar hidrostático. A diferencia de la circulación cerebral, la hipoxia causa una vasoconstricción pulmonar, con un incremento de la resistencia vascular pulmonar y un incremento de la presión arterial pulmonar. Las personas predispuestas a HAPE presentan una elevación exagerada de la presión arterial pulmonar como respuesta a la hipoxia alveolar (RVHP). Este excesivo RVHP ocurre a una hipoventilación relativa y una mayor hipoxia alveolar, pero también influyen el aumento de la actividad simpática y la menor producción de óxido nítrico endógeno (Maggiorini, 2001). El mecanismo propuesto para el desarrollo de HAPE es una vasoconstricción arteriolar pulmonar heterogénea inducida por la hipoxia, que origina una sobreperfusión regional aumentando la presión en los lechos capilares y pérdida de fluidos a nivel vascular (Davis y Hackett, 2017) La alteración de la barrera endotelial ocasiona presencia de fluidos, proteínas e incluso hemorragias en los espacios alveolares (Stream y Grissom, 2008). Sin embargo, los mecanismos mecánicos (sobreperfusión) no son suficientes para causar el grado de edema pulmonar persistente que se encuentra en HAPE, por lo que hay que considerar también a los mediadores inflamatorios, vías del óxido nítrico, el sistema renina-angiotensina, la proteína de choque térmico, las proteínas del surfactante pulmonar y el factor inducible por hipoxia (Kurtzman y Caruso, 2018).

Además, hay una variabilidad en la capacidad de eliminar el líquido del edema una vez que se ha desarrollado. Estos defectos en los mecanismos de transporte transepitelial dependientes de sodio de las células alveolares de tipo II pueden predisponer a ciertos individuos a la acumulación de edema y al desarrollo de HAPE (Swenson *et al.*, 2002). El diagnóstico de HAPE se basa en el ascenso previo a la altura y la presencia de al menos dos de los siguientes signos: disnea en reposo, tos, debilidad o disminución del rendimiento durante el ejercicio y opresión o congestión en el pecho; combinado con al menos dos de los siguientes signos: crepitaciones o sibilancias en al menos un campo pulmonar, cianosis central, taquipnea y taquicardia.

Además, presenta una alcalosis respiratoria con hipoxemia grave (Hackett y Roach, 2001b; Instituto de Medicina de la Altura, 2017) (Figura 2).

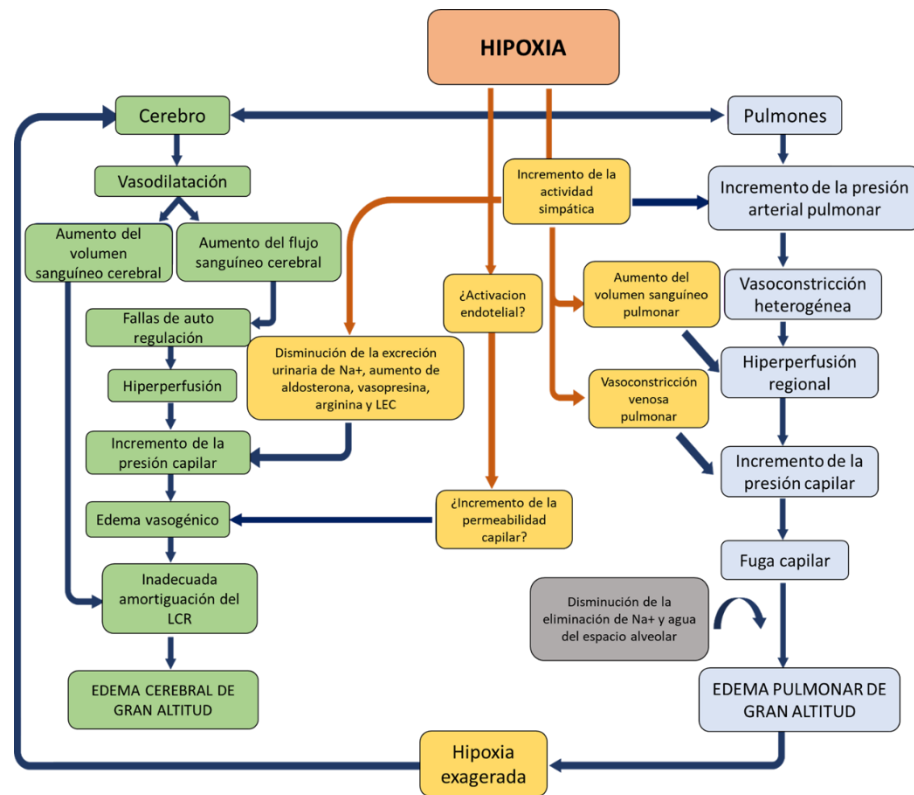


Figura 2. Mecanismos fisiopatológicos involucrados en el desarrollo del edema pulmonar de gran altitud (HAPE). Adaptado de Hackett y Roach, 2001b).

2.3.2. Síndrome cerebral: mal de montaña agudo / edema cerebral de gran altitud (AMS/HACE)

Las manifestaciones clínicas de AMS y HACE se originan en el cerebro, y las dos condiciones representan una continua disfunción neurológica progresiva. El límite entre ambos es difícil de precisar, y por eso se usa el término AMS/HACE, considerando los signos leves y autolimitados a la AMS; mientras los signos graves potencialmente mortales a la HACE. El HACE se considera como la etapa terminal de la AMS y ocurre cuando persiste el aumento de la presión intracraneal, edema cerebral y el aumento de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (Yarnell *et al.*, 2000). Este incremento de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica implica un aumento en la perfusión regional inducida por la hipoxia y una mayor expresión de mediadores vasculares como el factor inducible de hipoxia 1, el factor

de crecimiento endotelial vascular y el óxido nítrico (Luks, 2015); además, de la relativa incapacidad del sistema venoso para drenar la sobreperfusión cerebral puede causar edema, comprometiendo el drenaje venoso y exacerbando la hipertensión venosa y la presión intracraneal (Wilson *et al.*, 2013; Sagoo *et al.*, 2017).

Las áreas sensibles al dolor en el cerebro incluyen arterias, venas, senos duros y meninges que explican los primeros síntomas del AMS; estos síntomas incluyen dolor de cabeza, náuseas y malestar general. En algunos casos de estudios de imágenes de pacientes que padecen AMS se demuestra una pequeña cantidad de edema cerebral (Lawley *et al.*, 2016). El principal síntoma del AMS es el dolor de cabeza, mientras que la causa de muerte por HACE es una hernia cerebral por un aumento severo de la presión intracerebral (Hackett, 1999; Schoch *et al.*, 2002).

El síntoma más común de AMS es el dolor de cabeza (generalmente intenso), pero se deben experimentar al menos uno de los siguientes síntomas para ser definido como AMS: trastornos gastrointestinales (anorexia, náuseas o vómitos); mareo; lasitud o fatiga. La pérdida de apetito es el síntoma más común, que es evaluado por el sistema de puntuación de Lake Louise, este sistema no asocia síntomas comunes de síndrome viral o de enfermedades de vías respiratorias superiores, para evitar un mal diagnóstico de AMS (Paralíkar y Paralíkar, 2010; Roach *et al.*, 2018). Si el tratamiento tiene éxito, la presión intracraneal se normaliza; sin tratamiento, el individuo puede agravarse y ocurrir un HACE. Cuando se agrava un AMS debido al aumento de la presión intracraneal generalmente ocurre el edema cerebral, aunque también puede ocurrir sin síntomas previos de AMS. Por lo general, se presenta en asociación con el HAPE y es menos frecuente que ocurra individualmente. El diagnóstico clínico del HACE considera: progresiva ataxia, alteración del estado mental, dificultad para hablar, confusión, disminución de la conciencia y posteriormente el coma y la muerte del individuo. La parálisis del sexto par craneal es la disfunción más común (Dickinson, 1983; Roach *et al.*, 2018) (Figura 3).

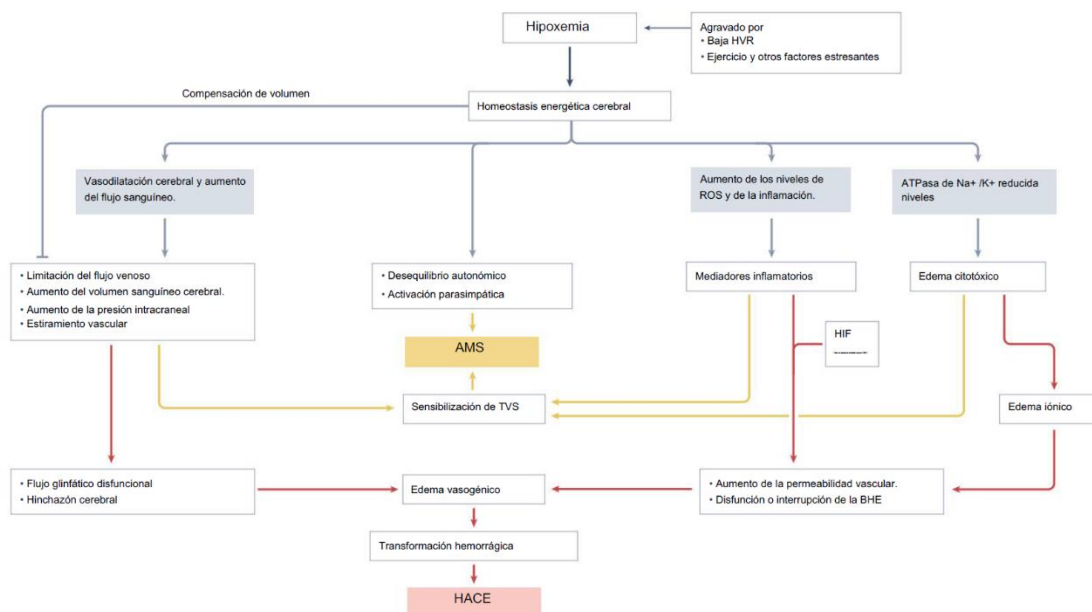


Figura 3. Mecanismos fisiopatológicos involucrados en el desarrollo del mal de montaña agudo (AMS) y el edema cerebral de las alturas (HACE). Adaptado de Gatterer *et al.*, 2024.

2.4 Reportes del efecto de la hipoxia hipobárica en condiciones experimentales

Muchas de las investigaciones experimentales relacionadas a la hipoxia se han realizado en condiciones de isquemia causadas por oclusión de vasos sanguíneos ocasionando a nivel cerebral una grave disminución del flujo sanguíneo, un menor suministro de glucosa y una menor eliminación de productos metabólicos obteniéndose altos niveles de ROS, inactivación de los sistemas de desintoxicación, consumo de antioxidantes y altos niveles en los parámetros de apoptosis celular (Niizuma *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2013; Manzanero *et al.*, 2013).

Otros autores han reportado, el tiempo de exposición en condiciones artificiales de hipoxia hipobárica simulando altitudes superiores a los 5000 msnm, comparándolas con los controles (animales con presiones ambientales similares a nivel del mar). Maiti *et al.*, (2007) encontraron que ratas con un tiempo de exposición de siete días a la hipoxia hipobárica, cambios morfológicos, neurodegeneración y apoptosis en regiones del hipocampo del cerebro de ratas.

Adicionalmente, se han realizado investigaciones con un tiempo de exposición a la hipoxia hipobárica hasta 21 días, encontrando un aumento en los marcadores de estrés

oxidativo (radicales libres, óxido nítrico, lipoperoxidación) con disminución del sistema antioxidante, pérdida de memoria espacial, cambios morfológicos neuronales (picnóticas y encogidas), fragmentación del ADN y apoptosis en las regiones del hipocampo, corteza y cuerpo estriado de cerebro de ratas (Maiti *et al.*, 2006, 2008). Asimismo, se han realizado también investigaciones en ratas sometidas a hipoxia hipobárica hasta 28 días encontrando alteraciones en la morfología y funcionalidad mitocondrial (fusión y fisión mitocondrial) relacionadas al estrés energético que conlleva también la hipoxia a nivel del hipocampo del cerebro en ratas (Jain *et al.*, 2015).

Por otro lado, Coimbra *et al.*, (2017) encontraron en condiciones de exposición a 2 días de hipoxia hipobárica una mayor expresión del HIF-1 α , aumento en los marcadores de estrés oxidativo y disminución de sistema antioxidante en regiones del hipocampo y corteza de cerebro de ratas. En la mayoría de investigaciones los resultados obtenidos demuestran que la región del hipocampo es la región más susceptible al estrés de la hipoxia de las regiones cerebrales en ratas estudiadas.

2.5 Efecto de la hipoxia sobre el sistema nervioso central

La exposición de los animales o personas a diferentes altitudes puede generar hipoxia con diferentes signos clínicos de acuerdo con el tiempo de exposición que puede ser aguda o crónica y otros factores adicionales intrínsecos de cada individuo. Se ha reportado, que a alturas superiores a los 1600 m.s.n.m. pueden alterarse patrones de sueño.

En altitudes superiores a los 2500 m.s.n.m., definida como gran altura (GA), en donde las condiciones ambientales se vuelven adversas tiene un efecto directo a nivel del cerebro, provocando cambios adversos en el estado de ánimo como la euforia o depresión (Bahrke *et al.*, 1993, Del Mastro *et al.*, 2011), ansiedad (Kious *et al.*, 2019), deterioro de la memoria (Koester-Hegmann *et al.*, 2018) y trastornos en la atención (Wang *et al.*, 2014) cursando con cambios cerebrales biológicos, estructurales e inflamatorios que agravan estos cuadros (Hernandez-Vasquez *et al.*, 2022) y a cambios en los niveles cerebrales de dopamina y serotonina, considerando que niveles altos de dopamina en el cerebro ocasiona euforia (Drevets *et al.*, 2001); sin embargo, entre los 48 a 52 horas post exposición retornan a sus estados iniciales (Shukitt-Hale y Lieberman, 1996).

Por otro lado, a alturas superiores a los 3000 m.s.n.m. pueden experimentar dolor de cabeza, mareos y confusión (Bahrke y Shukitt-Hale, 1993; Ma *et al.*, 2019) y cuando la

exposición a la hipoxia es superior a los 3500 m.s.n.m. puede ocurrir disfunciones neurocognitivas, disminución en los tiempos de reacción y deterioro de la atención. Asimismo, cuando la exposición a la hipoxia es superior a los 4000 m.s.n.m. ocurre disminución del aprendizaje, memoria espacial y de trabajo; y cuando es superior a los 5500 msnm existe deterioro en la recuperación (Shukitt-Hale *et al.*, 1994; Pun *et al.*, 2018).

Las personas nacidas en más de 2500 m.s.n.m. poseen adaptaciones genéticas y fisiológicas que no poseen las personas expuestas de forma aguda o crónica a esa altitud. La exposición de personas después de un ascenso superior a 5500 m.s.n.m. puede ocasionar edema cerebral y atrofia cortical (Fayed *et al.*, 2006), y si es de más de tres semanas de exposición a hipoxia puede ocasionar reducción del volumen cerebral (Fan *et al.*, 2016). En personas nacidas y personas expuestas a GA mostraron una reducción en la oxigenación y la actividad en la corteza visual occipital, la corteza insular, la corteza cingulada, la circunvolución precentral, el hipocampo y el cerebelo (Zhang y Zhang, 2022).

En personas con exposición prolongada a la hipoxia de GA afecta principalmente la atención, tal como se ha reportado en adolescentes nativos de Bolivia (Richardson *et al.*, 2011), quienes en alturas superiores a los 4000 m.s.n.m., se observó bajos niveles de desempeño en las funciones ejecutivas (Virues-Ortega *et al.*, 2011), reducción en las habilidades espaciales, abstractas y verbales aumentando significativamente el riesgo de déficit del desarrollo neurológico, con mayores efectos en mujeres (Wehby, 2013). Por el contrario, el trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH) es menos prevalente a medida que aumenta la altitud, lo que propone un efecto protector de la exposición a GA (Huber *et al.*, 2018), ocasionando controversia con el deterioro de la función neurocognitiva en exposición a la hipoxia de GA. Sin embargo, los estudios correspondientes realizados hasta el momento tienen el inconveniente de que no controlan sesgos asociados al nivel socioeconómico y al entorno familiar, escolar y social.

Los habitantes que residen en altura se han adaptado a la hipoxia a través de diferentes mecanismos fisiológicos (Mallet *et al.*, 2023) como son la mayor capacidad pulmonar, mayor ventilación, mejor difusión de oxígeno y mayor densidad vascular total (Gassmann *et al.*, 2016) y mayor concentración de hemoglobina. Sin embargo, con muy GA puede ocasionar alteraciones en el funcionamiento neurocognitivo (Chen *et al.*, 2021) como son

el deteriorado flujo sanguíneo cerebral (Iwasaki *et al.*, 2011), reducción de los niveles de glucosa (Merz *et al.*, 2006), reducida reactividad vascular (Yan, 2014) y alteración en la materia gris y blanca (Zhang y Zhang, 2022)

La aclimatación mejora el tiempo de reacción y la atención debido al aumento de la SpO₂, por lo que la velocidad de procesamiento y la atención están asociadas con la aclimatación de la SpO₂ (Pun *et al.*, 2018). Los valores de la SpO₂ disminuyen al aumentar la altitud hasta una mediana del 96% (95-97) a 2500 m.s.n.m., 92% (90-93) a 3600 m.s.n.m., 87% (85-89) a 4100 msnm y 81% (78-84) a 5100 m.s.n.m., con una mayor variabilidad creciente a mayores altitudes (Rojas-Camayo *et al.*, 2018). La reducción de la SpO₂ en la exposición a la hipoxia induce un rápido aumento en la respuesta ventilatoria hipóxica (RVH) (Soliz *et al.*, 2005), pero también, inestabilidad respiratoria relacionada a periodos de respiración rápida y profunda y apnea central durante el sueño (Lombardi *et al.*, 2013).

Respecto a la SpO₂ en niños expuestos a la hipoxia de GA muestra que uno de cada cuatro niños se satura menos significativamente que los demás (Ucros *et al.*, 2020), mientras uno de cada cuatro niños en exposición a la hipoxia tiene menos índice de saturación de oxígeno durante el sueño, lo que refleja la variabilidad de la SpO₂ (Ucros *et al.*, 2021a, 2021b). Los cambios en los patrones de sueño pueden modular el estado de ánimo y provocar déficits en la memoria de trabajo, la atención o las funciones ejecutivas (de Aquino Lemos *et al.*, 2012); sin embargo, no hay una correlación entre la baja SpO₂ durante el sueño y el deterioro cognitivo en personas expuestas a la hipoxia.

El efecto de la hipoxia en regiones cerebrales se ha reportado un aumento en los niveles de dopamina extracelular en el cuerpo estriado de roedores y lechones expuestos a bajas presiones de O₂ (Huang, 1994; Barath *et al.*, 2020), mientras hubo una disminución en los niveles de serotonina en personas con ansiedad y depresión, particularmente en mujeres (Pitychoutis *et al.*, 2012).

Asimismo, en exposiciones prolongadas a la GA se reportó estrés hipóxico en regiones noradrenérgica cerebrales como el *locus coeruleus* y el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HPA) (Ma *et al.*, 2008). También, esta exposición a la GA ocasiona alteraciones en la bioenergética cerebral que podría contribuir a los síntomas depresivos, como son las alteraciones en la expresión del trifosfato de adenosina (ATP) (Kondo *et al.*, 2016).

Además, en el hipocampo del cerebro de ratas expuestas a hipoxia hipobárica se ha demostrado alteraciones en la dinámica mitocondrial (Jain *et al.*, 2015) y en personas residentes en ambientes de 1400 m.s.n.m. exhiben diferencias significativas en el pH y niveles de fosfato a nivel cerebral comparados con residentes a nivel del mar (Shi *et al.*, 2014).

2.5.1 Fisiología y puntos anatómicos del cerebro

El cerebro representa el 2% del peso corporal humano y consume el 15% del gasto cardíaco, el 20% del O₂ corporal total y el 20% del suministro de energía del cuerpo cuando está en reposo. El consumo de energía puede aumentar en un 5% adicional cuando realiza alguna actividad, lo que demuestra que la mayor parte del consumo de energía del cerebro se utiliza para funciones intrínsecas. Además, utiliza la glucosa como su principal fuente de energía; sin embargo, puede utilizar los cuerpos cetónicos cuando hay bajos niveles de glucosa. Asimismo, el cerebro puede utilizar el lactato como fuente de energía durante la actividad física.

El cerebro está compuesto por cuatro lóbulos. El lóbulo frontal está involucrado en la función motora, el lenguaje y los procesos cognitivos (atención, memoria, afecto, estado de ánimo, personalidad, autoconciencia y razonamiento social y moral) (Chayer y Freedman, 2001). Además, en su lado izquierdo incluye el área de Broca responsable de la producción y articulación del habla. El lóbulo parietal es responsable de interpretar las funciones de visión, audición, motoras, sensoriales y de memoria. El lóbulo temporal que contiene el área de Wernicke es responsable de comprender el lenguaje hablado y escrito, procesa información sensorial para retener recuerdos, lenguaje, emociones y también involucra la audición y la percepción espacial y percepción visual (García-Peñas, 2009). El lóbulo occipital se relaciona con la interpretación de la información visual.

El cerebro controla la información motora y sensorial. Las neuronas motoras y sensoriales que descienden del cerebro cruzan hacia el lado opuesto a nivel del tronco encefálico. Este cruce ocasiona que el lado derecho del cerebro controle las funciones motoras y sensoriales del lado izquierdo del cuerpo; mientras, el lado izquierdo del cerebro controle las funciones motoras y sensoriales del lado derecho. En las etapas

del desarrollo del cerebro, los astrocitos secretan señales moleculares hacia las neuronas para determinar su ubicación, el tipo de neurotransmisor que secretarán y con qué neuronas se comunicarán, lo que lleva a la formación de un circuito neuronal que permanecerá durante la edad adulta. En el cerebro adulto, las neuronas desarrolladas encajan en su lugar correspondiente y desarrollan axones y dendritas para conectarse con las neuronas vecinas (Brinkmann *et al.*, 2008).

Los oligodendrocitos del sistema nervioso central (SNC) producen mielina para formar vainas aislantes alrededor de los axones para permitir la rápida propagación de los impulsos eléctricos a través de los axones. Los nodos de Ranvier son espacios desprovistos de vaina de mielina de los axones, que permiten la entrada de sodio al axón para ayudar a mantener la velocidad del impulso eléctrico que viaja a través del axón. Esta transmisión se llama conducción nerviosa saltatoria, el "salto" de impulsos eléctricos de un nodo a otro, garantizando que las señales eléctricas no pierdan su velocidad y puedan propagarse largas distancias sin deterioro de la señal (Bradly y Lassmann, 2010).

Las neuronas se comunican a través de neurotransmisores liberados en el espacio sináptico, que es un área de 20 a 50 nanómetros entre neuronas. La neurona que libera el neurotransmisor al espacio sináptico se denomina neurona presináptica y la neurona que recibe el neurotransmisor se llama neurona postsináptica. Un potencial de acción en la neurona presináptica se genera a nivel del cono axónico y se propaga por el axón, ocasionando la entrada de calcio y la posterior liberación de neurotransmisores desde su vesícula de almacenamiento a nivel del botón sináptico hacia el espacio sináptico. Tras ello, el neurotransmisor se une a receptores ubicados en la neurona postsináptica para influir en su actividad y las enzimas eliminan rápidamente los neurotransmisores en el espacio sináptico (Lovinger, 2008).

2.5.1.1 Hipotálamo

El hipotálamo está ubicado centralmente en el cerebro y recibe estímulos internos a través de receptores de las hormonas circulantes. La barrera hematoencefálica es particularmente permeable en el órgano subfornical y el órgano vascular alrededor

del hipotálamo, lo que permite detectar la osmolaridad sanguínea, a través de la hormona antidiurética (ADH) que puede provocar la reabsorción renal de agua. El hipotálamo detecta estímulos externos a través del tracto espinotalámico que transporta información sensorial somática particularmente de dolor (Coenen *et al.*, 2018).

El hipotálamo participa en la integración sensorial límbica a través del fórnix y el tracto mamilotalámico en el circuito de Papez y la conexión de la estría terminal con la amígdala. Las percepciones sensoriales a nivel de la corteza se reciben a través del haz del cerebro anterior medial. El tracto retinohipotalámico transporta señales luminosas al núcleo supraquiasmático, regulando el patrón diurno de liberación hormonal. La integración de estos estímulos a nivel del hipotálamo conduce a respuestas fisiológicas y conductuales apropiadas que mantienen la vida a lo largo del tiempo (Coenen *et al.*, 2018).

El hipotálamo constituye una estructura esencial en la regulación del sistema endocrino, del sistema nervioso autónomo y de los procesos relacionados con el comportamiento somático. Anatómicamente, está conformado por un conjunto bilateral de núcleos organizados en tres zonas que rodean al tercer ventrículo y a los cuerpos mamilares. En términos funcionales, los núcleos de la zona periventricular se encuentran principalmente vinculados con la regulación endocrina, mientras que los núcleos medial y lateral desempeñan un papel preponderante en la modulación tanto de la actividad autónoma como de las conductas somáticas. Los puntos de referencia que definen las regiones cerebrales del hipotálamo incluyen la lámina terminal, glándula pituitaria, cuerpos mamilares y surco hipotalámico superior (Coenen *et al.*, 2018).

Los núcleos paraventricular y supraóptico producen los péptidos oxitocina y ADH, que se liberan desde los axones neuronales hacia los capilares de la hipófisis posterior, por los que se consideran hormonas y neurotransmisores. La oxitocina en la circulación sistémica controla la contracción uterina durante el parto y la eyección de leche durante la lactancia. La ADH sistémica aumenta la translocación de los canales de acuaporina 2 a la membrana apical en los túbulos contorneados distales renales, aumentando la reabsorción de agua durante la deshidratación. Estas hormonas comparten un péptido común, lo que significa que el exceso de oxitocina,

La oxitocina sintética utilizada durante el parto, puede activar los receptores renales de ADH, por lo que la hiponatremia es un efecto secundario de la oxitocina sintética. La ADH también provoca vasoconstricción arteriolar para aumentar la presión arterial en la hipovolemia grave y libera el factor von Willebrand de los cuerpos de Weibel-Palade de las células endoteliales para controlar la hemorragia. Además, tanto la oxitocina como la ADH a nivel central, participan en el vínculo de pareja (Qin *et al.*, 2018).

Los núcleos preóptico, anterior y posterior regulan la temperatura corporal al disminuir el tono simpático del músculo esquelético, aumentan el tono simpático de la piel, dilatan los capilares y mejoran el intercambio de calor con el exterior. Hombres y mujeres difieren en la distribución de los receptores de estrógeno en el núcleo preóptico, lo que influye en el comportamiento sexual y materno (Wei *et al.*, 2018).

El núcleo supraquiasmático regula la secreción hormonal y el comportamiento diurno según la entrada de luz a través de los ojos. Las oscilaciones de veinticuatro horas de la actividad del factor de transcripción del reloj y la frecuencia del potencial de acción aumentan la actividad locomotora durante el día y la disminuyen durante la noche. Además, el cortisol alcanza su punto máximo alrededor del amanecer y la hormona del crecimiento alcanza su punto máximo cerca de la medianoche. La mayoría de los infartos de miocardio ocurren temprano en la mañana debido al pico de cortisol que se relaciona con el aumento de la presión arterial (Patton y Hastings, 2018).

El comportamiento alimentario es regulado por el núcleo ventromedial, cuya destrucción causa hiperfagia, como la que se observa en el síndrome de Prader-Willi. La saciedad percibida por esta zona, conduce a una disminución de la alimentación. El núcleo dorsomedial controla el comportamiento de la ira y la falta de saciedad puede conducir a la agresión. El hipotálamo lateral percibe el hambre y aumenta la ingesta de alimentos por lo que la destrucción de esta zona lateral provoca anorexia (Whiting *et al.*, 2018).

El núcleo arqueado libera hormonas secretadas por las terminales de los axones hacia el sistema venoso porta-hipotálamo-hipofisario para controlar la liberación de

hormonas de la hipófisis anterior. La hormona liberadora de corticotropina hace que los pituitarios anteriores liberen la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) en los capilares, que drenan hacia el sistema venoso cerebral. La ACTH viaja a través de la circulación sistémica para estimular la producción de la hormona cortisol en la zona fascicular de la corteza adrenal como respuesta al estrés. Dada su diversidad de aportes, el hipotálamo permite al cuerpo responder a factores estresantes tanto fisiológicos como psicológicos. Como mencionamos anteriormente, la producción de cortisol varía durante las 24 horas del día, con el nivel más alto alrededor del amanecer y el nivel más bajo alrededor del atardecer debido a las interconexiones entre los núcleos arqueado y supraquiasmático. La hormona liberadora de tirotropina (TRH) ocasiona la secreción sistémica de la hormona estimulante de la tiroides (TSH), lo que aumenta la síntesis y liberación de la hormona tiroidea para regular el metabolismo. El hipotálamo detecta en parte las reservas de energía corporal mediante receptores de la hormona leptina sintetizados por los adipocitos y cuando hay disminución de las reservas energéticas, el hipotálamo disminuye el metabolismo celular al disminuir la producción de hormona tiroidea (Harter *et al.*, 2018).

La secreción pulsátil de GnRH conduce a una mayor liberación de la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH); mientras la secreción continua de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) provoca una disminución en la liberación de LH y FSH. La LH estimula la producción de testosterona a nivel testicular y la producción de estrógeno a nivel ovárico. Un aumento de LH provoca la ovulación y el aumento de FSH estimula la espermatogénesis y la maduración de los ovocitos. La hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH) conduce a la liberación de la hormona del crecimiento (GH), que estimula el crecimiento y el metabolismo de los tejidos. La somatostatina disminuye la liberación de GH y se opone a la GHRH. La dopamina inhibe la secreción de prolactina como parte del circuito de dopamina hipotálamo-hipofisario. (Harter *et al.*, 2018).

El núcleo mamilar contribuye al sistema límbico como parte del circuito de Papez y también participa en la formación de la memoria y el control del comportamiento exploratorio (Dillingham *et al.*, 2015). El hipotálamo se encuentra en la cima de una

jerarquía motora que incluye la corteza cerebral, el sistema límbico, el tronco del encéfalo y las neuronas motoras de la médula espinal (Swanson y Lichtman, 2016).

2.5.1.2 Corteza frontal

La corteza cerebral es la porción más externa del cerebro y está constituido por los lóbulos frontal, temporal, parietal y occipital. Cada uno de estos lóbulos ha desarrollado funciones evolutivamente distintas e importantes. La superficie de la corteza tiene una apariencia característica de "protuberancias y surcos", donde las protuberancias son los pliegues de la corteza conocidos como circunvoluciones y los surcos separan las circunvoluciones. Estos pliegues permiten que el gran volumen cortical encaje dentro del espacio limitado de la bóveda craneal (Stiles y Jernigan, 2010).

La corteza del lóbulo frontal contiene cuatro circunvoluciones principales. La circunvolución precentral contiene la corteza motora primaria que es responsable de controlar los movimientos voluntarios de partes específicas del cuerpo. La corteza prefrontal donde se encuentra el centro de asociación de orden superior del cerebro, responsable de la toma de decisiones, el razonamiento, la expresión de la personalidad, el mantenimiento de la idoneidad social y otros comportamientos cognitivos complejos (El-Baba y Schury, 2023). La circunvolución frontal superior dominante (izquierda) es un componente clave en la red neuronal de la memoria de trabajo y en el procesamiento espacial; mientras que, la circunvolución frontal superior no dominante (derecha) participa en el control de los impulsos y que su activación modula el control inhibitorio y la urgencia motora (Hu *et al.*, 2016).

2.5.1.3 Cuerpo estriado

El cuerpo estriado es la estructura subcortical más grande de los ganglios basales que contiene el núcleo caudado, el núcleo subtalámico, la sustancia negra (SN) y el núcleo lenticular constituido por el putamen, globus pallidus externo (GPe) y globus pallidus interno (GPi). Consta de dos divisiones principales, el cuerpo estriado dorsal y el cuerpo estriado ventral. El cuerpo estriado dorsal participa principalmente en el control de los movimientos motores conscientes y las funciones ejecutivas, mientras

que el cuerpo estriado ventral es responsable de las funciones límbicas de recompensa y aversión. El núcleo caudado es una estructura en forma de C que comprende una cabeza, un cuerpo y una cola ubicados lateralmente a los ventrículos laterales. Los núcleos lenticulares (o “en forma de lente”) están limitados medialmente por el caudado y el tálamo y lateralmente por la cápsula externa. El extremo anterior de los núcleos lenticulares se continúa con la cabeza del caudado. Los núcleos lenticulares se subdividen en putamen y globo pálido, que a su vez se divide en segmentos externo e interno. El cuerpo estriado recibe señales de entrada de la corteza y el sistema límbico y de los núcleos profundos del tronco encefálico como es la SN. El cuerpo estriado dorsal tiene proyecciones GABAérgicas desde neuronas espinosas medianas hacia la GPi, denominada “vía directa” o la GPe, denominada “vía indirecta”. El cuerpo estriado ventral está compuesto por el núcleo accumbens y el bulbo olfatorio y tiene vías de salida similares al globo pálido mientras recibe información de otros núcleos como el área tegmental ventral (Young *et al.*, 2023).

La función principal de los ganglios basales, que incluyen al cuerpo estriado, es controlar los movimientos conscientes y propioceptivos. Los principales núcleos de entrada al cuerpo estriado son entradas dopaminérgicas de la sustancia negra pars compacta (SNpc), así como entradas excitadoras de la corteza y los núcleos talámicos intralaminares. La salida principal del cuerpo estriado es GPi y sustancia negra pars reticular (SNpr). Los complejos GPi y SNpr envían proyecciones inhibitorias sobre la parte ventral anterior (VA) y ventrolateral (VL) del tálamo. El SNpr también hace sinapsis con el colículo superior, el núcleo pedunculopontino y la formación reticular medular para modular la conciencia y la atención. (Mathai y Smith, 2011).

Los núcleos intrínsecos del cuerpo estriado se comunican a través de la “vía directa” y la “vía indirecta”, que son los elementos clásicos del circuito intrínseco de los ganglios basales. Estas dos vías funcionan en oposición para permitir sopesar y elegir los movimientos motores. Dentro de los núcleos intrínsecos del cuerpo estriado dorsal, existen dos poblaciones principales de neuronas, las neuronas que son excitadas por la dopamina vía receptores de dopamina D1, y las neuronas que son inhibidas por la dopamina vía receptores de dopamina D2. Las neuronas que expresan la familia de receptores D1 envían proyecciones a GPi/SNpr para formar la

"vía directa", mientras que aquellas que expresan la familia de receptores D2 envían proyecciones a GPe como parte de la "vía indirecta" (Young *et al.*, 2023).

La "vía directa" se compone de proyecciones inhibitoras del caudado o del putamen. La actividad en la "vía directa" libera o desinhibe el movimiento motor al inhibir el GPi/SNpr. La dopamina, a través de la vía nigroestriatal, hace sinapsis en las neuronas estriatales que expresan la familia de receptores D1 y estas neuronas excitadas envían proyecciones inhibitoras para inhibir GPi/SNpr. El GPi/SNpr tiene neuronas inhibitoras GABAérgicas que se proyectan a VA y VL del tálamo, las cuales envían proyecciones excitadoras a la corteza motora. De esta manera, la "vía directa" inhibe el GPi que a su vez ya no inhibe la VA y la VL del tálamo. Como resultado, se dice que VA/VL están "desinhibidos" y pueden excitar la corteza motora para promover el movimiento a través de sus proyecciones corticoespinales (Young *et al.*, 2023).

La "vía indirecta" inhibe la actividad motora y las neuronas dorsales del cuerpo estriado que expresan la familia de receptores de dopamina D2 son inhibidas por la dopamina del SN. Estas neuronas D2R envían conexiones GABAérgicas inhibitoras al GPe. El GPe inhibe el núcleo subtalámico, que excita el GPi/SNpr, completando la "vía indirecta". El GPi envía señales GABAérgicas inhibitoras a VA y VL del tálamo. De esta manera, la activación de la "vía indirecta" da como resultado la estimulación del GPi que luego inhibe la VA/VL del tálamo, inhibiendo en última instancia el movimiento (Young *et al.*, 2023).

Cabe señalar, que ambas vías (directa e indirecta) funcionan juntas cuando se mueve; sin embargo, ambas vías no se utilizan en reposo. Este enfoque respalda que las vías directa e indirecta funcionan en conjunto en lugar de oponerse entre sí (Cui *et al.*, 2013).

La SNpc envía dopamina al cuerpo estriado a través de la vía nigroestriatal y el cuerpo estriado tiene una población de neuronas que son excitadas por la dopamina porque expresan la familia D1 de receptores de dopamina como parte de la "vía directa". Por lo tanto, la dopamina despolarizará esta población de neuronas estriatales y aumentará la actividad en la "vía directa". El cuerpo estriado también

tiene una población de neuronas, la "vía indirecta", que son inhibidas por la dopamina ya que expresan la familia D2 de receptores de dopamina. La dopamina hiperpolarizará esta población e inhibirá la "vía indirecta". Así, el SNpc amplifica la respuesta de los ganglios basales excitando los directos e inhibiendo los indirectos. Una liberación tónica de dopamina modula preferentemente el receptor D1, y este es un potente modulador de la vía nigroestriatal (Obeso *et al.*, 2008).

2.5.1.4 Hipocampo

El hipocampo es una elevación convexa de tejido de sustancia gris dentro de la circunvolución parahipocampal, dentro del asta temporal inferior del ventrículo lateral y se asocia con la consolidación de la memoria y la toma de decisiones. Se puede describir de manera más holística como una lámina curva y recurvada de la corteza que se pliega hacia la superficie medial del lóbulo temporal. El hipocampo se compone de tres regiones principales: la circunvolución dentada, el hipocampo propiamente dicho y el subículo. Este último se localiza entre el hipocampo y la corteza entorrinal, además de otras áreas corticales. En la superficie medial del hemisferio cerebral se encuentran la circunvolución parahipocampal y los surcos cingulados, que conforman un anillo con forma de "C". Dentro del lóbulo temporal medial, la corteza presenta subdivisiones relevantes, entre ellas el hipocampo y la corteza entorrinal. A su vez, el hipocampo se organiza en tres segmentos: cabeza, cuerpo y cola (AbuHasan *et al.*, 2023).

El fórnix, que es el principal haz de salida del hipocampo, envuelve el tálamo, donde luego queda separado por la fisura coroidea y el plexo coroideo. El hipocampo contiene partes como la fimbria, el pilar, el cuerpo y la columna; la fimbria se forma donde las fibras alveolares convergen a lo largo de la porción medial de la asta inferior del ventrículo lateral. La sustancia blanca de la fimbria se separa para formar un punto crucial del fondo de saco ipsilateral en un punto más allá del esplenio del cuerpo calloso (Daugherty *et al.*, 2016).

La memoria incluye tres fases que son el registro, almacenamiento y recuperación de información. El hipocampo, la región parahipocampal del lóbulo temporal medial y la asociación neocortical son esenciales para el procesamiento de la memoria y el deterioro de la memoria a corto plazo que conduce a la incapacidad de formar nuevos recuerdos se produce cuando hay daño bilateral en estas regiones del hipocampo

(Kizilirmak *et al.*, 2019). El hipocampo está estrechamente asociado con la amígdala, el hipotálamo, el septum y los cuerpos mamilares, de modo que cualquier estimulación de las partes cercanas también estimula marginalmente el hipocampo. El hipocampo también es muy hiperexcitable, lo que indica que puede mantener una estimulación eléctrica débil ante una estimulación prolongada y sostenida que ayuda a codificar la memoria de los sentidos olfativos, visuales, auditivos y táctiles (Fogwe *et al.*, 2023).

En los animales inferiores, el hipocampo les ayuda a determinar si comerán ciertos alimentos basándose en el discernimiento olfativo, evitarán el peligro, responderán a invitaciones sexuales a través de feromonas o reaccionarán ante decisiones de vida o muerte. El hipocampo es un sitio para la toma de decisiones y la memorización de información para usos de seguridad futuros. Por lo tanto, tiene un mecanismo para convertir la memoria a corto plazo en memoria a largo plazo, consolidando el pensamiento verbal y simbólico en información a la que se puede acceder cuando sea necesario para la toma de decisiones (Fogwe *et al.*, 2023).

2.5.2 Efecto de la hipoxia hipobárica a nivel de la neurona

2.5.2.1 Metabolismo celular del sistema nervioso

El cerebro constituye una pequeña fracción de la masa corporal de un individuo, pero posee una alta tasa metabólica y consume más del 20% del aporte total de oxígeno; y las neuronas consumen aproximadamente del 75% al 80% de la energía producida en el cerebro (Hyder *et al.*, 2013). Esta energía consumida por las neuronas se utiliza principalmente en la sinapsis neuronal, que incluye la restauración de los potenciales de membrana, el reciclaje de las vesículas, síntesis de neurotransmisores y el transporte axoplásmico (Harris *et al.*, 2012; Rangaraju *et al.*, 2014; Pathak *et al.*, 2015). En la actividad neuronal hay un incremento del flujo sanguíneo cerebral, así como en el consumo de oxígeno y glucosa. Este aumento del flujo sanguíneo cerebral se relaciona con la producción del óxido nítrico (ON) ocasionando vasodilatación arteriolar, en donde también intervienen los astrocitos (Peppiatt *et al.*, 2006; Mishra *et al.* 2016).

Durante la exposición a la hipoxia de la altura hay un incremento en el flujo sanguíneo cerebral (FSC) que está relacionado a la reducción del contenido de oxígeno arterial y la disminución de la saturación de oxígeno que ocurre en los primeros días (2-3 días) de exposición a la altura y retornando a sus niveles normales dentro de las 2 a 3 semanas, dependiendo del grado de exposición a la hipoxia ambiental en que la persona fue enfrentada (Ainslie y Subudhi, 2014). Además Vestergaard y colaboradores encontraron un incremento en el FSC y un incremento en la tasa metabólica y en la concentración de lactato en condiciones de la inhalación de una concentración hipóxica al 10% de O₂ (Vestergaard *et al.* 2016).

Las neuronas y las funciones neuronales se consideran altamente sensibles a la hipoxia y la interrupción del suministro de oxígeno al cerebro causa daños perjudiciales en cuestión de minutos. (Rolett *et al.*, 2000). La reducción de las demandas de oxígeno a nivel cerebral se puede lograr por el reclutamiento de los mecanismos anaeróbicos, sin embargo, el cerebro posee reducida capacidad glucolítica por lo que está limitado este cambio de vía aeróbica a anaeróbica, por tal motivo, el cerebro debe activar otros mecanismos de sobrevivencia o mejorar la oxigenación cerebral (Erecińska y Silver 1994) . Durante el desarrollo embrionario, la tensión de oxígeno es baja en el cerebro fetal (hipoxia) y es esencial para un adecuado desarrollo morfológico embrionario (Wagenführ *et al.*, 2015). Similar ocurre ante una lesión hipóxica en el cerebro adulto causada por un accidente cerebrovascular isquémico que desencadena una mayor proliferación de células madre neuronales y neurogénesis (Martí-Fàbregas *et al.*, 2010).

2.5.2.2 Sensores de oxígeno

La disponibilidad de mecanismos que detectan rápidamente cambios en los aportes de oxígeno es importante para preservar la viabilidad a nivel cerebral. En hipoxia de muy corta duración ocurren reacciones que son primariamente catalizadas por el NADPH oxidasa, óxido nítrico sintasa (NOS) y hemo oxigenasas, en donde el oxígeno aparece en los reactantes y obteniendo como productos el anión superóxido, ON y monóxido de carbono, respectivamente; que actúan como segundos

mensajeros. Estos mecanismos actúan rápidamente, pero son insuficientes ante casos de hipoxia de larga duración o crónica. En estos casos son importantes los sistemas transcripcionales como son los factores transcripcionales inducibles por hipoxia (Terraneo y Samaja 2017).

2.5.2.3 Regulación del factor de transcripción inducible por hipoxia

La respuesta celular a la hipoxia a largo plazo está mediada principalmente por cambios en la expresión génica de los factores inducibles por hipoxia (HIF) (Denko *et al.*, 2003). El HIF es un complejo heterodimérico formado por una subunidad α (HIF- α) y una subunidad β (HIF- β). Aunque la subunidad β es requerida en la respuesta hipóxica, esta subunidad es denominada también translocador nuclear del receptor hidrocarburo (ARNT) y es expresada constitutivamente en todas las células del organismo, mientras que la subunidad α está directamente regulada por los niveles de oxígeno. En condiciones de normoxia, los residuos prolina del HIF-1 α son hidroxilados por las enzimas prolil hidroxilasa (PHD), y una vez hidroxilados la subunidad HIF-1 α interactúa con la proteína supresor tumoral von Hippel-Lindau (pVHL) y degradando el HIF-1 α (Bruick y McKnight, 2001). Mientras que, durante la hipoxia, hay una disminución en la actividad del PHD con la menor hidroxilación de los residuos prolina ocasionando la estabilización de la subunidad HIF-1 α , translocando en el núcleo y formando un dímero con el HIF- β para promover la expresión génica, dirigiéndose a los genes que contienen un elemento de respuesta a la hipoxia (HRE) (Jaakkola *et al.*, 2001).

Bajo condiciones de hipoxia, el sistema nervioso expresa ampliamente el HIF-1 α y se ha demostrado que el HIF-1 α tanto *in vitro* como *in vivo* regula positivamente en las interneuronas, pero no a las neuronas piramidales; y se ha establecido que el estado redox celular contribuye a la regulación del HIF-1 α en células neuronales y no neuronales (Ramamoorthy y Shi, 2014). El HIF-1 α actúa como un potenciador glucolítico a través de la activación transcripcional de genes metabólicos que incluyen 6-fosfofructo-2-quinasa/fructosa-2,6-bisfosfato 3 (PFKFB3) y la piruvato deshidrogenasa quinasa-1 (PDK1), ambos reguladores positivos de la glucólisis y del transportador de monocarboxilato 4 (MCT4), que permite la salida de lactato (Watts *et al.*, 2018) (Figura 4).

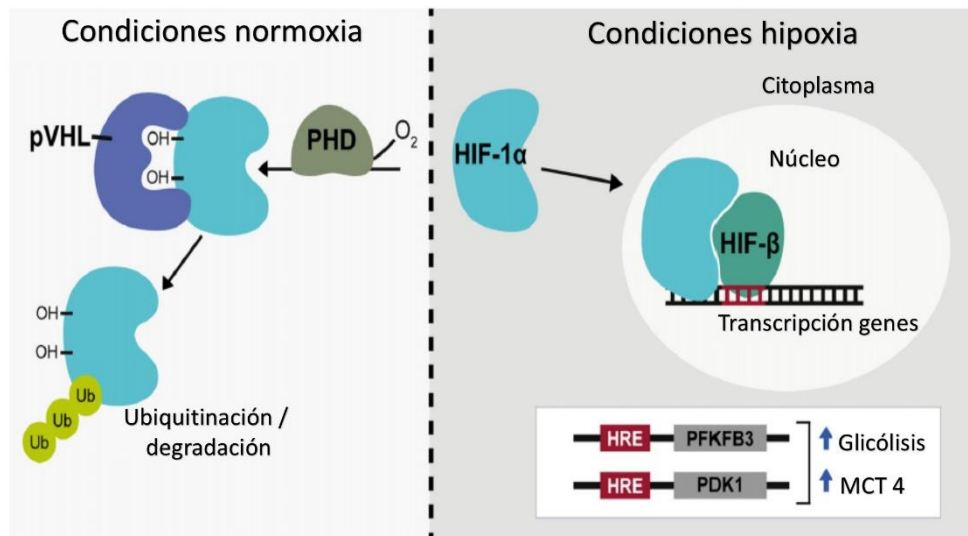


Figura 4. Regulación del factor transcripcional inducible por hipoxia. Adaptado de Watts *et al.*, 2018.

La glucosa, que es un agente reductor, contribuye al estado redox en las neuronas y se ha demostrado que la expresión de HIF-1 α aumenta de manera dependiente de la glucosa durante la hipoxia (Shi y Liu, 2006; Guo *et al.*, 2008). Además, existe una relación negativa entre los niveles de HIF-1 α y las especies reactivas de oxígeno (ROS), infiriendo que las ROS promueven la degradación de HIF-1 α mientras que un ambiente reductor estabiliza el HIF-1 α (Schafer y Buettner, 2001).

2.5.2.4. *Proteína kinasa B*

El mecanismo de señalización del PI3k-Akt, también conocido como proteína kinasa B, juega un rol importante en un gran rango de tipos celulares neuronales relacionado principalmente en prevenir la muerte celular a través de la preservación de la integridad de la membrana mitocondrial y la prevención de la liberación del citocromo c desde las mitocondrias (Kennedy *et al.* 1999).

2.5.2.5 *Eritropoyetina*

La eritropoyetina (EPO) es la responsable de la eritropoyesis ya que interactúa con el receptor de la Epo ubicado en las células progenitoras eritroides. La EPO además de ser producida en el riñón, también es producida por las neuronas y astrocitos a nivel del cerebro (Marti *et al.*, 1996) y está relacionada en condiciones

de hipoxia. Además, la expresión del receptor de Epo en neuronas logra una óptima neuroprotección en condiciones de hipoxia (Sanchez et al. 2009).

2.5.3 Biomarcadores de estrés oxidativo

2.5.3.1 Especies reactivas de oxígeno (ROS) e hipoxia

El estrés oxidativo resulta del desbalance entre la producción de radicales libres y su detoxificación y eliminación. A nivel celular, se consideran a las mitocondrias como la mayor fuente de ROS y también poseen la mayor capacidad antioxidante. Las ROS ocasionan daño a macromoléculas como las proteínas, lípidos, polisacáridos y ácidos nucleicos. El O₂ es esencial para el metabolismo aeróbico y también es fundamental para la generación de especies reactivas de O₂ (ROS), que son un subproducto del metabolismo oxidativo (Adam-Vizi, 2005). El metabolismo aeróbico disminuye durante la hipoxia, pero aumenta la producción de ROS mitocondrial pudiendo provocar daño oxidativo (McGarry *et al.*, 2018). A pesar de esto, muchos animales se han adaptado a la vida en diversas condiciones de hipoxia y probablemente hayan desarrollado estrategias para mantener la homeostasis de ROS y evitar la acumulación del daño oxidativo.

Las principales fuentes celulares de generación endógena de ROS incluyen nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidasa (NOX), xantina oxidoreductasa y el sistema de cadena de transporte de electrones mitocondrial (CTE) (Kishida y Klann, 2007). Inicialmente, se pensaba que NOX y xantina oxidoreductasa contribuían mínimamente en la producción celular total de ROS durante la normoxia, a menos que se reclutaran activamente como parte de una respuesta inmune (Vignais, 2002). Sin embargo, también se producen altos niveles de ROS en el retículo endoplásmico como subproducto del plegamiento de proteínas y la biosíntesis de esteroides debido al NOX y al citocromo P450 (Mennerich *et al.*, 2019; Sies *et al.*, 2022). Además, se cree que las mitocondrias son la principal fuente de generación de ROS durante la normoxia en la mayoría de las células y dependiendo de la especie, se estima que entre el 0,25 % y el 11 % de todo el O₂ consumido para el proceso de fosforilación oxidativa se escapa del CTE para formar subproductos como los aniones superóxido (O₂⁻) (Aon *et al.*, 2012; Zorov *et al.*, 2014). Por otro lado, se encuentra el sistema antioxidante, que ayuda en la

desintoxicación de ROS dentro de las células y posteriormente mitiga el daño oxidativo.

Es importante destacar que las ROS son potentes segundos mensajeros celulares involucrados en la propagación de factores de crecimiento, la modulación de las respuestas inmunes, la estabilización de los factores inducibles por hipoxia (HIF), la modificación de la función de las proteínas y la regulación de la apoptosis (West *et al.*, 2011; Finkel, 2012; Kiselyov y Muallem, 2016). Como tal, las ROS están estrechamente reguladas cuando la célula está en homeostasis porque existe un rango ideal y cambiante de regulación tanto de la generación como de la eliminación de ROS que depende de las condiciones ambientales y fisiológicas (Sies, 2021). Sin embargo, durante un cambio en la disponibilidad de oxígeno ambiental se producen mayores cantidades de ROS (Panov *et al.*, 2007) y las células no pueden mantener este rango ideal y este exceso de ROS puede ser nocivo (Martínez y Andriantsitohaina, 2009), ya que pueden producir daños a las proteínas, el ADN y los lípidos si la tasa de generación de ROS excede la capacidad de los sistemas antioxidantes para eliminar los radicales libres (Apel y Hirt, 2004; Starkov *et al.*, 2014).

Dado que el O_2^- es un subproducto del metabolismo oxidativo, es razonable suponer que los cambios en la disponibilidad de oxígeno ambiental o el suministro tisular local de oxígeno afecten la producción celular de ROS. Sin embargo, durante la hipoxia aumentan la concentración de donantes de electrones, lo que conduce a una mayor producción de ROS en relación con la normoxia (Turrens *et al.*, 1982), como lo encontrado en cultivos celulares de PC12 (de la médula suprarrenal de rata), (Nanduri *et al.*, 2015), en mitocondrias de cultivos celulares de Hep3B y de osteosarcoma humano 143B (Guzy *et al.*, 2005) y en expresión de ARNm de NOX2 y NOX4, que funciona como un sensor de oxígeno (Nisimoto *et al.*, 2014). Estos estudios pertenecen a especies intolerantes a la hipoxia; mientras falta investigar el vínculo entre la hipoxia y la producción de ROS en especies tolerantes a la hipoxia.

El aumento de la producción de ROS inducido por la hipoxia generalmente se atribuye a las mitocondrias y específicamente, a nivel del CTE; el complejo IV requiere oxígeno para que esta enzima acepte electrones desde el complejo III hasta el citocromo c en el proceso de fosforilación oxidativa (Wilson *et al.*, 1988). Pero

cuando no hay O₂ disponible, esta reacción no puede avanzar en la dirección directa y, en cambio, se invierte el flujo de electrones a lo largo de la CTE. En esta situación, el complejo III no puede pasar electrones al citocromo c y produce comparativamente menos ROS; y a la vez empieza a disminuir la actividad del complejo I, potencialmente invirtiendo el flujo de electrones y empezando a producir mayores cantidades de ROS debido a una reducida reserva de coenzima Q (Scialo *et al.*, 2017). Además, el complejo II produce insignificantes cantidades de ROS durante la normoxia a través de la actividad del succinato deshidrogenasa, pero esta enzima contribuye significativamente a la producción de ROS durante la hipoxia a través de su reacción enzimática inversa (fumarato reductasa) y mediante la reducción del conjunto de coenzima Q durante el transporte inverso de electrones (Scialo *et al.*, 2017).

Bajo condiciones de normoxia, pequeñas cantidades de O₂ a nivel mitocondrial se reducen a ROS en lugar de convertirse en H₂O. Esta producción de ROS ocurre principalmente a través de la fuga de electrones en los complejos I o III de la CTE que se encuentran en las crestas internas mitocondriales. Esta fuga de electrones ocasiona la conversión del 1% al 2% del O₂ en el anión superóxido (O₂⁻). Además, el cerebro al poseer una alta tasa metabólica consume altos niveles de O₂, lo que lleva a una mayor formación de radicales libres, por lo que las defensas antioxidantes son fundamentales para disminuir los niveles de ROS por debajo del umbral tóxico. El O₂⁻ es el primer radical que aparece con la reducción del O₂ y por la acción de la enzima superóxido dismutasa (SOD) puede transformarse en peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Sin embargo, aunque el H₂O₂ es poco reactivo con la mayoría de las biomoléculas, puede reaccionar con Fe²⁺ (por la reacción de Fenton) y formar el radical libre más reactivo, el radical hidroxilo (OH^{*}), que puede reaccionar con cualquier biomolécula. (Halliwell y Gutteridge, 1984; Liochev, 2013).

El grado de generación de ROS tras la reoxigenación depende de la intensidad y duración de la hipoxia, pero existen dos teorías respecto a la mayor producción de ROS durante la fase de reoxigenación. Una teoría postula que la acumulación de succinato durante la hipoxia es la base de este estallido, ya que el resultado del transporte inverso sostenido de electrones durante la hipoxia o isquemia es la acumulación de NADH y el succinato (Pell *et al.*, 2016), y tras la reoxigenación, la

CTE y la reacción enzimática continúa una vez más en la dirección de avance. La tasa resultante de actividad de la succinato deshidrogenasa depende del grado de acumulación de succinato, pero generalmente conduce a una repentina y gran acumulación de ROS a través del complejo I, ya que el NADH y el succinato se metabolizan rápidamente en presencia de O₂ (Chouchani *et al.*, 2014). Se cree que esta es una fuente importante de generación nociva de ROS durante la lesión por reperfusión. Por el contrario, otra teoría atribuye este aumento a la producción de ROS asociada a la reperfusión a la actividad de NOX (Chouchani *et al.*, 2016).

Específicamente, como se necesita oxígeno para la actividad de NOX, la reoxigenación sirve como desencadenante de la producción exacerbada de ROS después de la hipoxia. La elevada actividad de NOX durante la reoxigenación se ha atribuido al ensamblaje hipóxico de NOX2, la acumulación de NADPH, así como a la activación inducida por calcio a través de la actividad del receptor de N-metil-D-aspartato en poblaciones neuronales hipóxicas (Brennan-Minnella *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2018). Además, la xantina oxidasa puede contribuir al desequilibrio de ROS durante esta fase, ya que la xantina deshidrogenasa se convierte en xantina oxidasa durante la hipoxia y, combinada con la acumulación de hipoxantina debido a la degradación del ATP, da como resultado una explosión de ROS tras la reoxigenación (Forman y Zhang, 2021). Estos variados resultados sugieren que el manejo desregulado de ROS en varios sistemas celulares en paralelo puede contribuir a desequilibrios en ROS durante la hipoxia/reoxigenación. Si los sistemas antioxidantes no están regulados positivamente para amortiguar los cambios redox, grandes explosiones de ROS pueden inducir daño celular letal a través de la oxidación de lípidos de membrana, proteínas o ADN (Levrant *et al.*, 2003; Chouchani *et al.*, 2016). Las altas concentraciones de ROS pueden promover además vías de muerte celular apoptótica (Marchi *et al.*, 2012).

El cerebro es el órgano más sensible al estrés oxidativo debido a: una abundante presencia de ácidos grasos insaturados que son propensos a la peroxidación, una deficiente defensa antioxidante (principalmente del glutatión), alta tasa metabólica, alto contenido de metales de transición como el cobre y el hierro que podrían llevar a la formación de radicales hidroxilo y reducida capacidad para regenerarse (Franco-Iborra *et al.*, 2018).

2.5.3.2 Enzimas antioxidantes e hipoxia

En circunstancias normales, el sistema de defensa antioxidante del cuerpo puede suprimir la producción de radicales libres, reparar daños y estimular la secreción de enzimas antioxidantes. Las enzimas antioxidantes son los antioxidantes endógenos más importantes que eliminan los radicales libres en el cuerpo. Entre estas enzimas, la superóxido dismutasa (SOD) actúa como defensa principal en el sistema de defensa antioxidante del cuerpo. El SOD y el glutatión peroxidasa (GPx) desempeñan un papel crucial en el mantenimiento del equilibrio entre la oxidación y la defensa antioxidante en el cuerpo, eliminando eficazmente los radicales libres y protegiendo las células del daño oxidativo (Deng *et al.*, 2012).

La SOD es un grupo de enzimas que utilizan cationes metálicos como centro activo y son capaces de eliminar de forma autónoma el radical O_2^- del cuerpo y convertirlo en H_2O_2 y O_2 , y se encuentran ampliamente en una variedad de plantas aeróbicas, animales y microorganismos (Wang *et al.*, 2020). La SOD cataliza la dismutación del radical O_2^- , convirtiéndolo en O_2 y H_2O_2 . Luego, el H_2O_2 se convierte en O_2 y H_2O mediante la acción de la enzima catalasa (CAT). Así, el radical tóxico O_2^- se convierte en O_2 y H_2O que son no tóxicos mediante la acción combinada de SOD y CAT, logrando el objetivo de eliminar los radicales libres de oxígeno del cuerpo, mantener el estado redox de las células y controlar los radicales libres a un nivel bajo e inofensivo. Al mismo tiempo, la SOD puede inhibir la producción del radical $\cdot OH$ al impedir la reacción del superhidruro con óxido nítrico para formar el anión peroxinitrito ($ONOO^-$), manteniendo así los niveles bajos de ROS en el cuerpo y previniendo el daño neuronal. Los principales subtipos de SOD implicados en la defensa antioxidante son la superóxido dismutasa de manganeso (MnSOD) y la superóxido dismutasa de cobre/zinc, esta última presente principalmente en el citoplasma. Ambos subtipos pueden eliminar los radicales libres de oxígeno, convirtiendo aniones superóxido en H_2O_2 , que luego se descompone en H_2O y O_2 no tóxicos mediante CAT y GSH reducido. Sin embargo, debido a las diferentes ubicaciones y expresiones genéticas de los dos subtipos en el cuerpo, sus mecanismos y efectos específicos pueden diferir (Vats *et al.*, 2015). El MnSOD juega un papel crucial en la eliminación de los radicales libres. Preetha et al. (2018)

encontraron que la sobreexpresión de MnSOD finalmente previno el aumento de la vía de los polioles, el envejecimiento celular, la actividad de la proteína quinasa C y la actividad de la vía de las hexosaminas en las células endoteliales, disminuyendo así el estrés oxidativo. CAT, GSH y otros antioxidantes también son importantes en el cuerpo y ejercen diversos grados de estrés antioxidante a través de diferentes mecanismos.

Para mantener un nivel equilibrado de especies reactivas, las células poseen varios sistemas de defensas antioxidantes, siendo la primera en actuar la enzima SOD cuya acción es acelerar la dismutación de dos moléculas del radical O_2^- y formar una molécula de H_2O_2 y una molécula de O_2 , con la finalidad de disminuir los efectos nocivos del radical O_2^- . En humanos se han identificado tres isoenzimas de la SOD: la SOD1 que contiene cobre y zinc (CuZnSOD), que se encuentra principalmente en los compartimentos citosólico y nuclear; la SOD2 que contiene manganeso (MnSOD), que se localiza a nivel mitocondrial; y la SOD3, que es una MnSOD pero que se localiza en el compartimiento extracelular (Perry *et al.*, 2010). Aunque el H_2O_2 es un radical libre de baja reactividad, debe ser eliminado por la acción de enzimas como la catalasa, las glutatión peroxidasas (GPX), el sistema tiorredoxina, las peroxiredoxinas (PRDX) y las glutaredoxinas. La GPX acopla la reducción del H_2O_2 a H_2O , para la cual se requiere la oxidación del glutatión reducido (GSH) a glutatión oxidado (GSSG); este GSSG puede volver a convertirse en GSH mediante la acción de la glutatión reductasa (GR). La PRDX también acopla la reducción de H_2O_2 con un ciclo de oxidación dependiente de peróxido y reducción dependiente de tiorredoxina, este último catalizado por tiorredoxina y tiorredoxina reductasa. Las glutaredoxinas tienen la misma función que el sistema de tiorredoxinas. Las glutatión S-transferasas participan en la desintoxicación de compuestos electrofílicos mediante su conjugación con GSH (Hayes *et al.*, 2005, Rhee *et al.*, 2005; Franco-Iborra *et al.*, 2018) (Figura 5).

Además, existe otro grupo de antioxidantes no enzimáticos como el glutatión, que es el ácido ascórbico (vitamina C), el α -tocoferol (vitamina E), carotenoides o flavonoides, que se ingieren principalmente con la dieta y participan en eliminar los radicales libres (Forman *et al.*, 2014). La última línea de defensa antioxidante es el secuestro de metales de transición "libres", como el hierro o el cobre, que son capaces

de estimular la formación de radicales libres y también la oxidación directa de macromoléculas. Dentro de las células, el hierro se almacena en forma de ferritina y el cobre como metalotioneína (Rutherford y Bird, 2004).

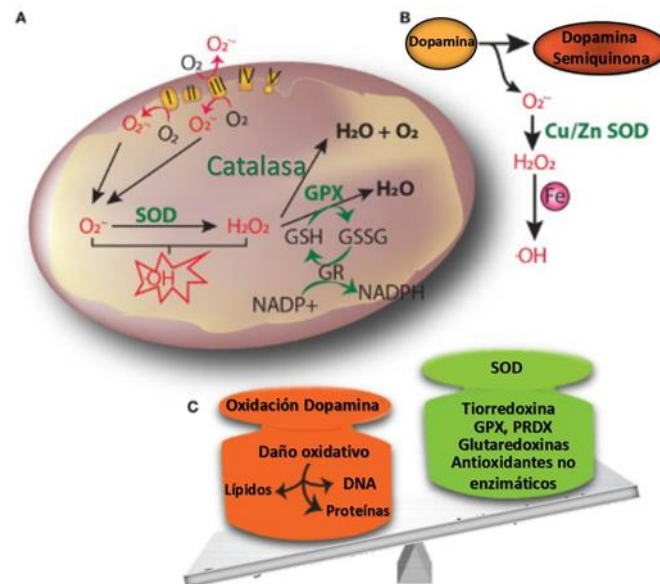


Figura 5. Estrés oxidativo. Producción de radicales libres y sistema antioxidante. Adaptado de Franco-Iborra *et al.*, 2018.

2.5.3.3 Estrés oxidativo y apoptosis neuronal en hipoxia

La hipoxia hipobárica causa efectos perjudiciales en el sistema nervioso central, predominantemente a nivel del hipocampo, corteza cerebral y núcleo estriado. Dependiendo del tiempo de exposición a la hipoxia hipobárica, se asocia a neurodegeneración que afecta funciones cognitivas como la memoria y el aprendizaje. Esta neurodegeneración se relaciona a la generación de radicales libres de O_2 y de nitrógeno, disipación de energía, distorsión en la liberación de neurotransmisores como la excitotoxicidad del glutamato, elevados niveles de corticosteroides, apoptosis y alteraciones en las funciones proteómicas y genéticas (Maiti *et al.*, 2007, 2008).

La hipoxia induce estrés oxidativo por varias vías siendo una de ellas la estimulación de la liberación de glutamato ocasionando excitotoxicidad neuronal,

que favorece la apertura de canales de calcio dependientes de voltaje, incrementa los niveles de calcio intracelular, activa la óxido nítrico sintasa (NOS) dependiente de calcio y finalmente genera el ON. El ON tiene gran afinidad por el radical $\cdot\text{O}_2^-$ para formar peroxinitrito que reacciona con las membranas lipídicas causando lipoperoxidación (Sen *et al.*, 2006). Este exceso de calcio intracelular también ocasiona daño mitocondrial por sobrecarga de calcio mitocondrial que últimamente, incrementa la producción de radicales libres y disminuye la producción de ATP; esta gran acumulación de calcio altera la función metabólica y puede ocasionar muerte celular (Mitani *et al.*, 1990). Los astrocitos tienen una función fundamental en la captación de glutamato para prevenir la activación tónica de los receptores sinápticos y ayudar en la prevención de la excitotoxicidad neuronal (Fellin *et al.*, 2006). Esta acción lo lleva a cabo a través de los transportadores de glutamato dependientes de sodio de alta afinidad que son los: transportador de aminoácidos excitadores 1 (EAAT1) [GLAST (transportador de glutamato-aspartato)] y EAAT2 [transportador de glutamato 1 (GLT-1)], que se expresan predominantemente en astrocitos, mientras que los EAAT3 [EAAC1 (transportador de aminoácidos excitadores 1)], EAAT4 y EAAT5 se expresan predominantemente en las neuronas (Sims y Robinson, 1999).

El estrés oxidativo inducido por la hipoxia, también es un poderoso iniciador de la apoptosis (esta vía de señalización de la apoptosis, es denominada la vía intrínseca), que contribuye a la muerte de las células neuronales por hipoxia. Posterior a la hipoxia cerebral, las mitocondrias liberan en el citosol las proteínas apoptóticas como el citocromo c (cyt c) y el factor inducible por apoptosis (AIF). Esta liberación de cyt c y otras proteínas proapoptóticas desde el espacio intermembranoso mitocondrial puede desencadenar la activación de la caspasa y la apoptosis. Una vez liberado en el citosol, el cyt c se une con el factor activador de proteínas apoptóticas 1 (Apaf-1) y la procaspasa 9 para formar un "apoptosoma", que activa a la caspasa 9 y posteriormente la caspasa 3. La caspasa-3 activada resulta en la fragmentación del ADN, degradación del citoesqueleto y proteínas nucleares, formación de cuerpos apoptóticos, expresión de ligandos para los receptores de células fagocíticas y finalmente la captación de los cuerpos apoptóticos por las células fagocíticas (Elmore, 2007; Niizuma *et al.*, 2010) (Figura 6).

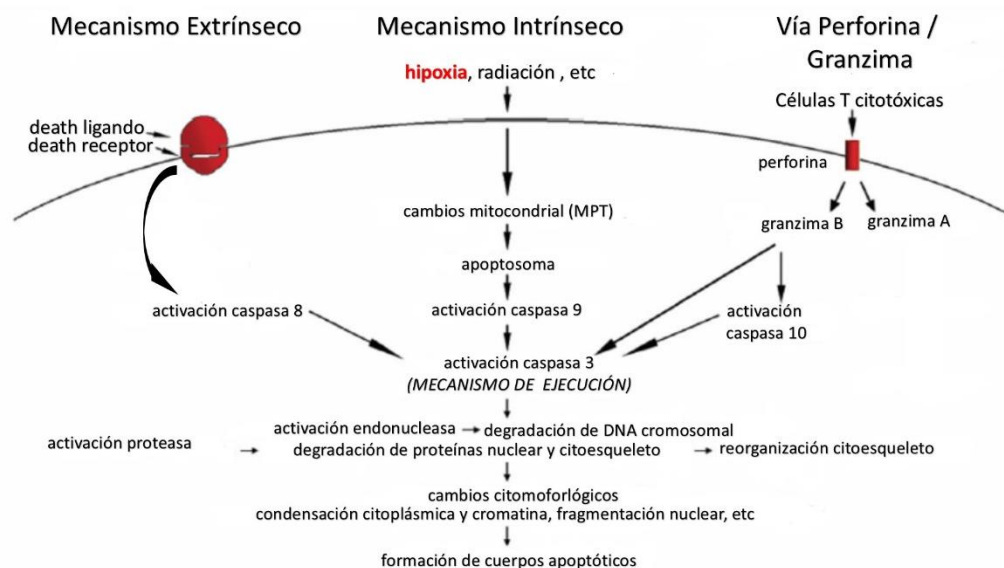


Figura 6. Representación esquemática de los eventos de la apoptosis.

Adaptado de Elmore, 2007.

Además, hay que considerar que, si la baja disponibilidad de O_2 se prolonga, las células se adaptan induciendo la activación del HIF. La acción principal del HIF se relaciona con la homeostasis energética que consiste en: inactivación del anabolismo, activación de la glucólisis anaeróbica y la inhibición del metabolismo aeróbico mitocondrial a través del ciclo de ácido tricarboxílico (TCA) y la fosforilación oxidativa. Las consecuencias de la disminución de la fosforilación oxidativa y el aumento de la velocidad de glucólisis (mayor actividad de la fosfofructoquinasa) son que la glucólisis es poco eficaz y aumenta la producción de lactato, que finalmente reduce el pH celular, si es que las células se mantienen en hipoperfusión como ocurre en condiciones isquémicas (Lum *et al.*, 2007).

2.5.4 Biomarcadores del complejo inflammasoma e hipoxia

La inflamación es un proceso patológico fundamental en el que el organismo reacciona ante la estimulación de diversos factores de daño, principalmente en defensa. Cuando la respuesta inflamatoria es excesiva, también puede provocar daños en el organismo. La microglía son los macrófagos residentes del SNC y son la primera línea de defensa contra infecciones y lesiones (Kwon y Koh, 2020). La activación de la microglía es un paso crucial en la patogénesis de las enfermedades neurológicas. Estudios revelaron que la hipoxia podría inducir neuroinflamación, lo que puede provocar muerte neuronal y trastornos neurológicos, como la enfermedad

de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson y los accidentes cerebrovasculares. Esta hipoxia puede activar la microglía y desencadenar la liberación de citoquinas proinflamatorias que pueden dañar las neuronas y provocar trastornos neurológicos (Mishra *et al.*, 2021). Por tanto, la neuroinflamación inducida por hipoxia es un objetivo potencial para el tratamiento de diversos trastornos neurológicos. El inflamasoma NLRP3 es un complejo multiproteico citosólico que reacciona a infecciones microbianas, señales de peligro endógenas y estímulos ambientales. Está compuesto por la proteína del receptor inmunológico innato NLRP3, la proteína adaptadora ASC y la proteasa inflamatoria caspasa-1. La neuroinflamación inducida por microglía está mediada principalmente por el inflamasoma NLRP3. El inflamasoma NLRP3 ensamblado puede desencadenar la activación de la proteasa caspasa-1 para inducir la piroptosis dependiente de gasdermina D y facilitar la liberación de IL-1 β e IL-18, que se distribuyen a la defensa inmune innata y al mantenimiento homeostático (Kelley *et al.*, 2019). Se ha informado que la hipoxia indujo la activación del inflamasoma NLRP3, lo que llevó a la neurogénesis en adultos y a déficits de interacción social (Chauhan *et al.*, 2022).

Además, el factor 1 α inducible por hipoxia (HIF-1 α) presumiblemente controló las respuestas inflamatorias para afectar la muerte celular tanto apoptótica como piroptótica después de un accidente cerebrovascular a través de la regulación del complejo inflamasómico NLRP3 (Jiang *et al.*, 2020). Zhu *et al.* (2023) evaluaron el número microglial y el nivel de activación y revelaron una elevación significativa de la microglía. Morfológicamente, encontraron que el grupo hipóxico tenía una mayor proporción de microglía con citosomas más grandes y sinapsis que desaparecían, lo que es un signo de activación de la microglía. Los resultados de ELISA y qRT-PCR también mostraron un nivel elevado de citoquinas proinflamatorias, como IL-6, TNF- α , iNOS en suero e hipocampo. Además, también se detectó que el complejo inflamasoma NLRP3 estaba elevado en los niveles de proteína y ARNm en respuesta a la hipoxia, sugiriendo que la hipoxia indujo la neuroinflamación y la activación del inflamasoma NLRP3. Sin embargo, el mecanismo específico de la disfunción cognitiva inducida por la activación de NLRP3 necesita una mayor exploración.

2.5.5 Biomarcadores de muerte celular e hipoxia

Diferentes subregiones del cerebro toleran diferentes grados de hipoxia, donde las "células propensas a anoxia" son las neuronas del tronco encefálico y las neuronas vertebrales del cornu ammonis 1 (CA1) del hipocampo (Hwang *et al.*, 2013). Hay pruebas que demuestran que la hipoxia estimula la expresión del oncogén celular fos (c-fos) en el hipocampo, y la proteína c-fos puede tratarse como un marcador de activación neuronal mediante estímulos nociceptivos (Hwang *et al.*, 2013). En condiciones de hipoxia, una expresión reducida de la proteasa GAD en las neuronas del hipocampo conduce a cambios en la densidad sináptica inhibitoria (Hwang *et al.*, 2018). Además, otros han descubierto que la densidad de espinas dendríticas en las neuronas del área CA1 disminuye después de la exposición hipóxica (Zhuravin *et al.*, 2019), y la apoptosis en esta área aumentó significativamente. Investigaciones adicionales han ilustrado que la actividad de la caspasa-3 en las neuronas CA1 aumentó (Coimbra-Costa *et al.*, 2017) y la expresión de la proteína p53 activada por hipoxia a través de múltiples vías, lo que lleva a la apoptosis neuronal (Humpton y Vousden, 2016). El análisis de los datos del transcriptoma ha revelado que el desequilibrio de la expresión de miR-26b y miR-207 jugó un papel en el proceso de deterioro cognitivo causado por la hipoxia (Gao *et al.*, 2017). Además de la subregión CA1, no se pueden ignorar los efectos de la hipoxia en CA3. En ambientes hipóxicos, las partículas de lipofuscina se depositan en el área CA3, lo que resulta en una acumulación gradual de macromoléculas dañadas e induce aún más cambios morfológicos en las mitocondrias del hipocampo en ratones con problemas de memoria. No obstante, Tsai *et al.* (2013) han demostrado que la intervención de hipoxia intermitente después de una isquemia cerebral puede desencadenar la neurogénesis del hipocampo y la reforma sináptica, que puede estar relacionada con el proceso de activación de la expresión de BDNF. Además, el hidrógeno también puede activar la proteína quinasa B (AKT) al reducir la expresión de miR-200a-3p, miR-200b-3p o mir-429, reduciendo así la apoptosis en las neuronas del hipocampo (Wei *et al.*, 2015).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar y periodo de ejecución

El presente estudio fue desarrollado en tres localidades de la región Lima con las altitudes 170, 3151 y 4214 msnm (Figura 7) durante los meses de marzo a junio del 2023, tal como se detalla a continuación:

La Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos está ubicada en el distrito de San Borja en Lima Metropolitana a una altitud de 170 m. s. n. m.; latitud: -12.08121; longitud: -76.986943; DMS: 12° 4' 52.36" S | 76° 59' 12.99" W; UTM: 283728.336E 8663681.194N 18L; MGRS: 18LTM 83728 63681; EPSG:4326: -76.986943 -12.08121; Plus Codes: 57V5W297+G6; Lima 15021. En esta localidad fueron criados los animales controles (animales criados a nivel del mar).

El distrito de Ayauca que está ubicado en la provincia de Yauyos de la región Lima a una altitud de 3151 m. s. n. m.; latitud: -12.5915; longitud: -76.036896; DMS: 12° 35' 29.4" S | 76° 2' 12.83" W; UTM: 387370.923E 8607815.864N 18L; MGRS: 18LUM 87371 07816; EPSG:4326: -76.036896 -12.5915; Plus Codes: 57V5CX57+C6, LM-126, Ayauca 15765. En esta localidad fueron criados los animales de elevada altitud (animales de altitud 1, A1).

La localidad de Casapalca que está ubicada en el distrito de Chicla, Provincia de Huarochirí de la región Lima a una altitud de 4214 m. s. n. m.; latitud: -11.649563; longitud: -76.235148; DMS: 11° 38' 58.43" S | 76° 14' 6.53" W; UTM: 365362.09E

8711903.45N 18L; MGRS: 18LUN 65362 11903; EPSG:4326: -76.235148 -11.649563;
Plus Codes: 57W59Q27+5W; Casapalca 15565.

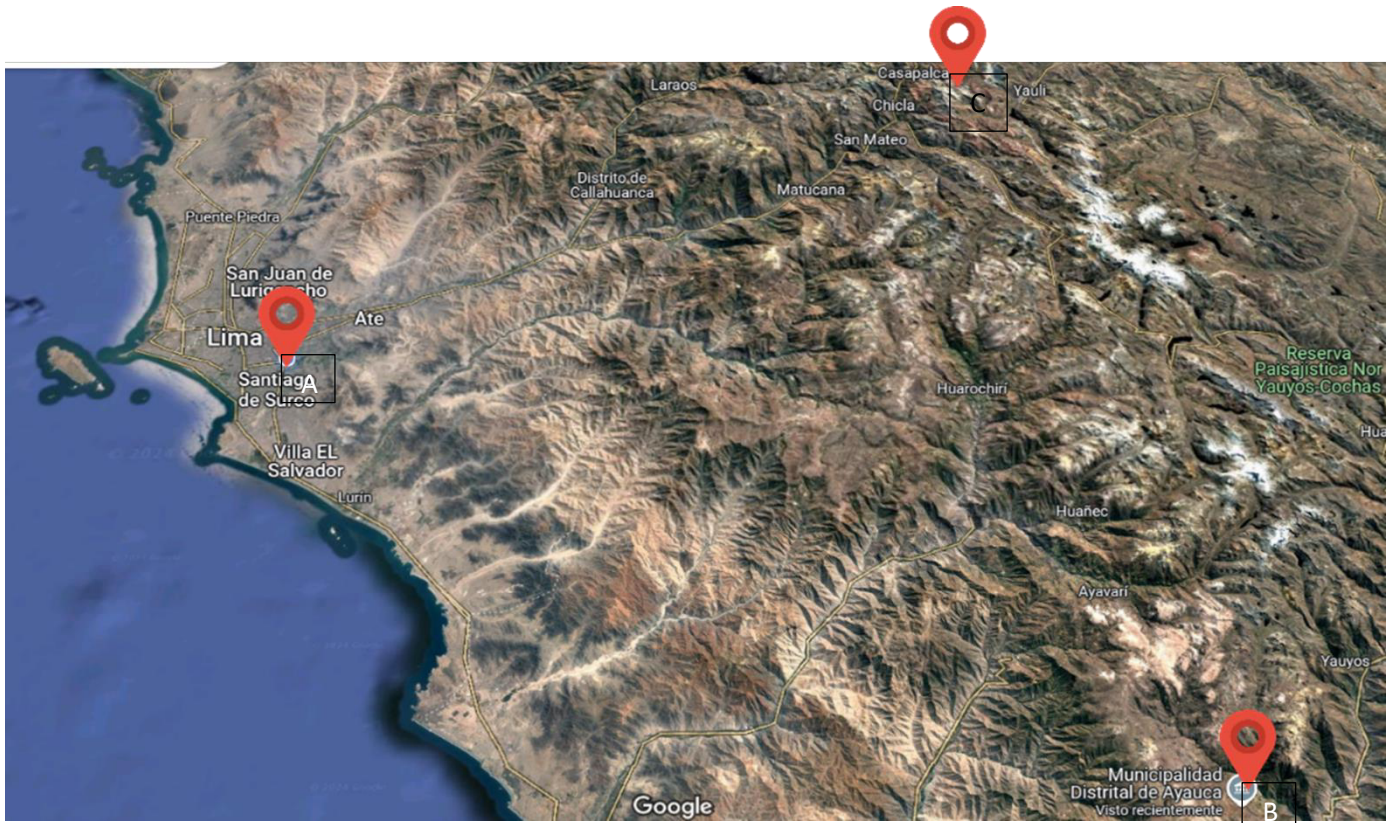


Figura 7. Localidades en la región Lima donde se desarrolló el estudio. A. Ubicación geográfica de la FMV-UNMSM (170 m. s. n. m.). B. Distrito Ayauca (3151 m. s. n. m.). C. Distrito de Casapalca (4214 m. s. n. m.).

3.2 Descripción del material experimental

Todos los procedimientos experimentales con animales fueron revisados y aprobados por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Constancia de Autorización Ética CEBA 2021-21).

Se utilizaron 75 ratas albinas macho nacidas y criadas a nivel del mar (Instituto Nacional de Salud del Perú) que pesaban inicialmente 180 g y tenían 8 semanas de edad. Las ratas se alojaron en parejas en jaulas de plástico con lecho de viruta y se mantuvieron en una habitación de material noble con parámetros ambientales controlados, con una

temperatura de 20 ± 2 °C y una humedad relativa aproximada de 40% (Figura 8). Los ciclos de luz/oscuridad fueron de 12 h (encendido 8:00 horas y apagado 20:00 horas). El alimento suministrado fue específico para roedores, y el agua potable estuvo disponible *ad libitum*. La agrupación al azar de animales fue realizada con el software de libre acceso Random.org.



Figura 8. Crianza de ratas en jaulas de plástico utilizando estufas y termómetros ambientales para mantener la temperatura en el rango de 20 ± 2 °C

3.3 Diseño experimental u observacional

Todas las ratas tuvieron un manejo durante una semana previo al inicio del experimento, con el objetivo que se acostumbren al entorno y reduzcan el estrés durante

la fase de experimentación. Las ratas fueron agrupadas al azar utilizando el software de acceso libre Random.org; y divididos en 15 grupos (cinco animales por grupo):

Grupo control (C): cinco grupos de ratas se mantuvieron al nivel del mar (170 m. s. n. m.) en las instalaciones del Laboratorio de Fisiología Animal de la FMV-UNMSM

Grupo elevada altitud (A1): cinco grupos de ratas fueron transportadas y expuestas a una elevada altitud (3151 m. s. n. m.) en la ciudad de Ayauca - Provincia de Yauyos - departamento de Lima

Grupo gran altitud (A2): cinco grupos de ratas fueron transportadas y expuestas a una gran altitud (4214 m. s. n. m.) en la ciudad de Casapalca – Provincia de Huarochirí – departamento de Lima, según la clasificación de Hackett y Roach (2001b), como se detalla en el cuadro 2 y Figura 9:

Cuadro 2. Distribución de las ratas en los grupos C (170 m. s. n. m.) y en los grupos A1 (3151 m. s. n. m.) y los grupos A2 (4214 m. s. n. m.), estos dos últimos expuestos a la hipoxia de la altura.

Animales		Altura (m. s. n. m.)		
		C	A1	A2
		(170 m s. n. m.)	(3151 m. s. n. m.)	(4214 m. s. n. m.)
Exposición ambiental (días)	1d	5 ratas	5 ratas	5 ratas
	3d	5 ratas	5 ratas	5 ratas
	7d	5 ratas	5 ratas	5 ratas
	14d	5 ratas	5 ratas	5 ratas
	28d	5 ratas	5 ratas	5 ratas

C: control; A1: elevada altitud; A2: gran altitud



Figura 9. Tiempo de exposición ambiental y días en que se tomaron las muestras de cerebro de ratas en el grupo control (nivel del mar) y en los grupos expuestos a elevada altitud (3151 m. s. n. m.) y gran altitud (4214 m. s. n. m.)

3.4 Toma de muestras

Tras los tiempos indicados en cada grupo, los animales fueron sacrificados por decapitación y el cerebro se aisló rápidamente, diseccionando (a 4°C) las regiones cerebrales hipotálamo, corteza frontal, cuerpo estriado e hipocampo, según el procedimiento descrito por Glowinski y Iversen (1966), en donde indica el protocolo de disección y aislamiento de las regiones cerebrales, así como los límites entre las diferentes regiones (Figura 10).

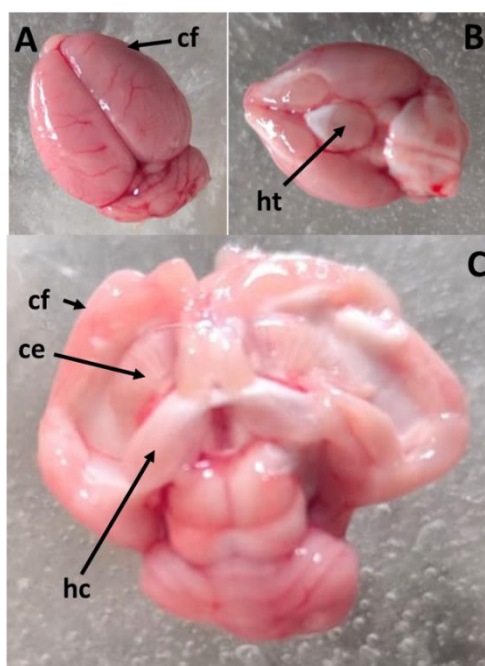


Figura 10. Representación esquemática de las cuatro regiones cerebrales de ratas a estudiar: hipotálamo (ht), corteza frontal (cf), hipocampo (hc) y cuerpo estriado (ce). (A) vista dorsal del cerebro, (B) vista ventral del cerebro, (C) vista dorsal con disección de la corteza cerebral. Modificado de Glowinski y Iversen (1966).

Las regiones cerebrales fueron diseccionadas en cuatro fragmentos equitativos para los diferentes ensayos (enzimáticos, moleculares, colorimétricos y de fluorescencia), siempre manteniendo una cadena de frío de 4 °C e inmediatamente fueron almacenadas a -80°C en crioviales rotulados. Las muestras para los ensayos enzimáticos, colorimétricos y de fluorescencia fueron utilizadas dentro de las 24 horas de su obtención; mientras que las muestras utilizadas para el ensayo molecular fueron utilizadas dentro de las 12 horas de su obtención (Figura 11).

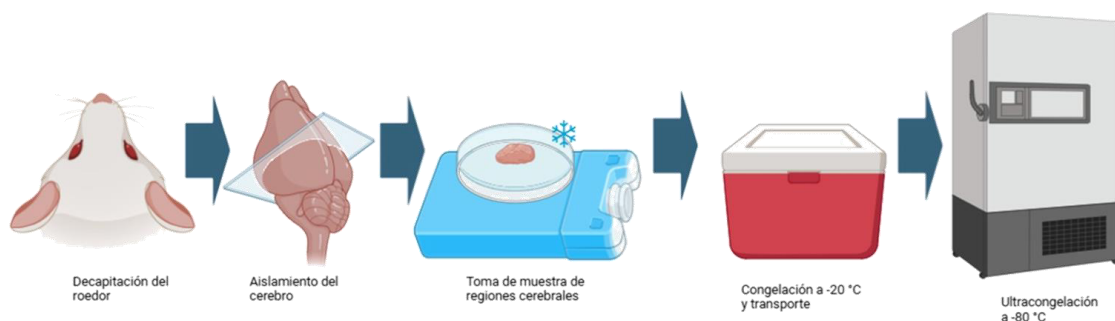


Figura 11. Flujograma de la disección y toma de muestras de las regiones cerebrales para su transporte y análisis en laboratorio. Las regiones cerebrales fueron diseccionadas en frío (4°C) y almacenadas inmediatamente (-80 °C) para su posterior análisis enzimático y molecular.

3.5 Ensayos de fluorescencia

3.5.1 Metodología del ensayo de estrés oxidativo (ROS)

Se homogeneizaron 10 mg de cada región cerebral en un tampón que contenía 50 mM de HEPES, 320 mM de sacarosa e inhibidores de proteasa. Inmediatamente, se añadió un total de 15 µL del homogeneizado (equivalente a 1 mg de región cerebral) a 80 µM

(concentración final) de DCFH-DA (diluido en DMSO) en solución salina tamponada con fosfato (PBS). La reacción se llevó a cabo en placas negras de 96 pocillos a una temperatura de incubación de 37 °C durante 30 min (LeBel *et al.*, 1990). La producción de ROS se registró en un fluorómetro FLX800 (BioTek, Winooski, VT, USA) con una longitud de onda de excitación/emisión (485 nm/528 nm) (Cuadro 3 y Figura 12).

Cuadro 3. Materiales y equipos de laboratorio utilizados para el desarrollo del ensayo de estrés oxidativo (ROS).

Equipo / material	Fabricante
Ultracongeladora (-86°C)	Thermo Scientific, USA
Balanza analítica (0.1mg)	Kern, Alemania
Cabina de flujo laminar	Heal Force, Italia
Fluorómetro	Biotek, Synergy HTX, USA
Refrigeradora (-20 °C)	LG, Corea del Sur
Centrífuga refrigerada	Eppendorf 5702R, USA
Vortex	Labnet International, USA
Micropipetas 0.5 - 1000µL	Eppendorf, USA
Tubos (1.5mL, 15mL, 50mL)	Eppendorf, USA
Puntas (0.5 - 1000µL)	Thermo Fisher Scientific, USA
DCFH-DA	Sigma – Aldrich USA
HEPES	Sigma – Aldrich USA
Sacarosa	Sigma – Aldrich USA
Inhibidores de proteasas	Sigma – Aldrich USA

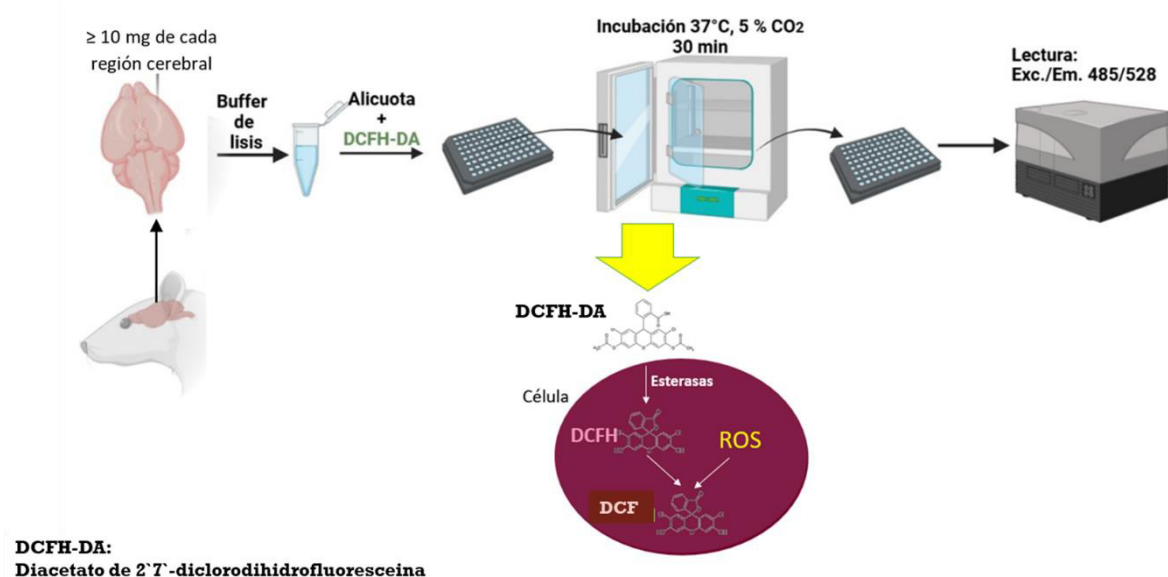


Figura 12. Flujograma del ensayo de fluorescencia para la detección de ROS en hipotálamo, corteza frontal, hipocampo y cuerpo estriado de ratas. Se utilizó la sonda fluorescente DCFH-DA para la detección de ROS intracelular.

3.6 Ensayos colorimétricos

3.6.1 Metodología del ensayo de peroxidación lipídica para la determinación de malondialdeído (MDA)

Se homogeneizaron 10 mg de cada región cerebral con un tampón de lisis que contenía duodecil sulfato de sodio (SDS). El homogeneizado se centrifugó a $13\,000 \times g$ durante 15 min a 4 °C. Luego, se mezclaron vigorosamente 250 μL del sobrenadante con 250 μL de ácido tiobarbitúrico (0,07 %) disuelto en solución de sulfato de sodio (Dasgupta y Klein 2014). La mezcla se incubó a 95 °C durante 60 min y se leyó en el espectrofotómetro a 532 nm (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EE. UU.), (Cuadro 4 y Figura 13).

Cuadro 4. Materiales y equipos de laboratorio utilizados para el desarrollo del ensayo de peroxidación lipídica (MDA).

Equipo / material	Fabricante
Ultracongeladora (-80°C)	Thermo Scientific, USA
Balanza analítica (0.1mg)	Kern, Alemania
Cabina de flujo laminar	Heal Force, Italia
Espectrofotómetro con monocromador	Agilent Technologies, USA
Refrigeradora (-20°C)	LG, Corea
Centrífuga refrigerada	Eppendorf 5702R, USA
Vortex	Labnet International, USA
Micropipetas 0.5 - 1000µL	Eppendorf, USA
Tubos (1.5mL, 15mL, 50mL)	Eppendorf, USA
Puntas (0.5 - 1000µL)	Thermo Fisher Scientific, USA
Duodecil sulfato de sodio (SDS)	Sigma – Aldrich USA
Ácido tiobarbitúrico	Sigma – Aldrich USA

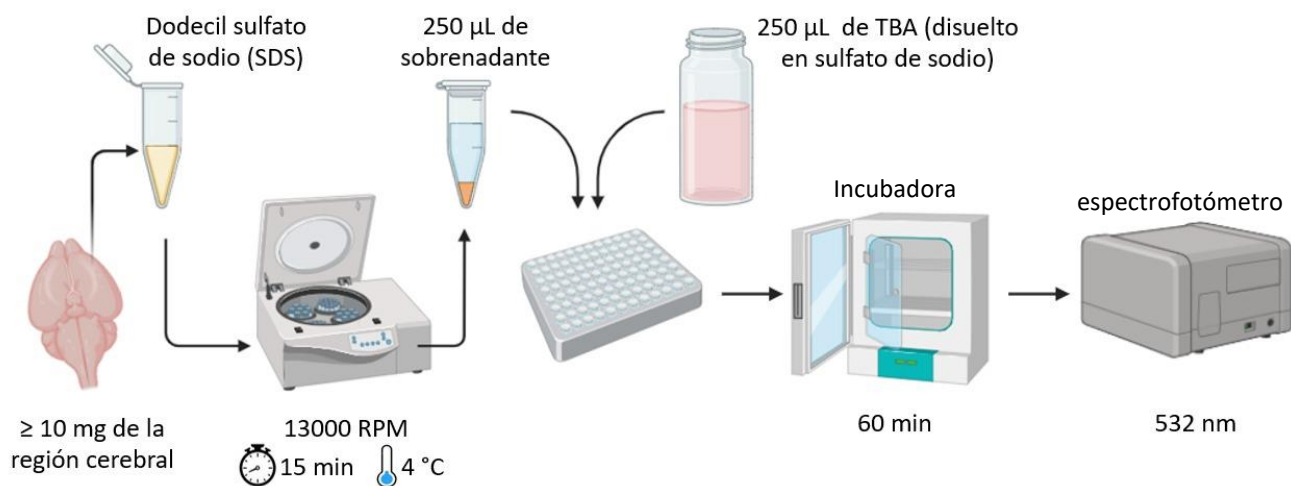


Figura 13. Flujograma del ensayo de peroxidación lipídica para la determinación de MDA en hipotálamo, corteza frontal, hipocampo y cuerpo estriado de ratas. Se utilizó la reacción TBRAS para determinar los niveles de MDA celulares.

3.7 Ensayos enzimáticos

3.7.1 Metodología del ensayo de la actividad de la enzima catalasa (CAT)

Para este ensayo, se utilizó el kit de ensayo de actividad colorimétrica de catalasa de acuerdo con las pautas del fabricante. Este kit está diseñado para medir la actividad de catalasa en diversos tejidos y células de mamíferos y fue caracterizado a partir de la catalasa humana, pero se puede extrapolar a muestras de otras especies animales (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, MA, EE. UU.). La CAT tiene actividad enzimática altamente conservada en todos los tejidos de mamíferos. El principio de la actividad de la enzima catalasa es la hidrólisis del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno para prevenir los potenciales efectos dañinos de excesivos niveles de peróxido de hidrógeno. Para el uso de este kit es recomendable realizar la totalidad del ensayo en frío (aproximadamente a 4°C).

a. Preparación de las muestras:

Las regiones cerebrales fueron lavadas vigorosamente con PBS frío antes del procesamiento, esta parte del procedimiento tuvo como objetivo remover residuos de células sanguíneas u otros tejidos no relacionados con la región cerebral a estudiar. Luego, homogenizamos 100mg de tejido con 0,5mL del Buffer de ensayo 1X en frío. Inmediatamente, centrifugamos el homogenizado a 10000xg por 15 minutos a 4°C, en una ultracentrífuga refrigerada (Eppendorf 5702R). Transcurrido el tiempo de centrifugación, colectamos el sobrenadante y realizamos el ensayo colorimétrico inmediatamente.

b. Preparación de los estándares:

Se adicionó 10µL del estándar de catalasa a un tubo que contenía 190µL de buffer de ensayo 1X y fue rotulado 5U de catalasa /mL, luego se añadió 100µL de buffer de ensayo 1X a cada uno de 6 tubos marcados de la siguiente manera: 2.5, 1.25, 0.625, 0.313, 0.156 y 0.0 U de catalasa /mL. Inmediatamente se realizó diluciones seriadas de mayor a menor concentración utilizando para ello 100µL del estándar previo. En todo este procedimiento fue necesario realizar mezclas vigorosas y los estándares fueron utilizados dentro de las 2 horas de preparación.

c. Procedimiento del ensayo:

Todo el procedimiento fue realizado a temperatura ambiente, para ello hemos utilizado una placa de 96 pocillos transparente, en cada pocillo se adicionó 25µL de la muestra o del estándar, luego se añadió 25µL del reactivo del peróxido de hidrógeno y se incubó por 30 minutos a temperatura ambiente.

A esta reacción se añadió 25µL del sustrato en cada pocillo y finalmente 25µL de solución de HRP1X y se incubó por 15 minutos a temperatura ambiente. La lectura fue realizada con un espectrofotómetro (Agilent Technologies, CA, EE. UU) a 560nm. Los valores de densidad óptica se calcularon a partir del ajuste de la curva estándar para obtener la actividad de catalasa en U/mL/mg de tejido (Cuadro 5 y Figura 14).

Cuadro 5. Materiales y equipos de laboratorio utilizados para el desarrollo del ensayo de la actividad enzimática de catalasa.

Equipo / material	Fabricante
Ultracongeladora (-80°C)	Thermo Scientific, USA
Balanza analítica (0.1mg)	Kern, Alemania
Cabina de flujo laminar	Heal Force, Italia
Espectrofotómetro con monocromador	Agilent Technologies, USA
Refrigeradora (-20°C)	LG, Corea
Centrífuga refrigerada	Eppendorf 5702R, USA
Vortex	Labnet International, USA
Micropipetas 0.5 - 1000µL	Eppendorf, USA
Tubos (1.5mL, 15mL, 50mL)	Eppendorf, USA
Puntas (0.5 - 1000µL)	Thermo Fisher Scientific, USA
Kit de actividad de catalasa	Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, USA

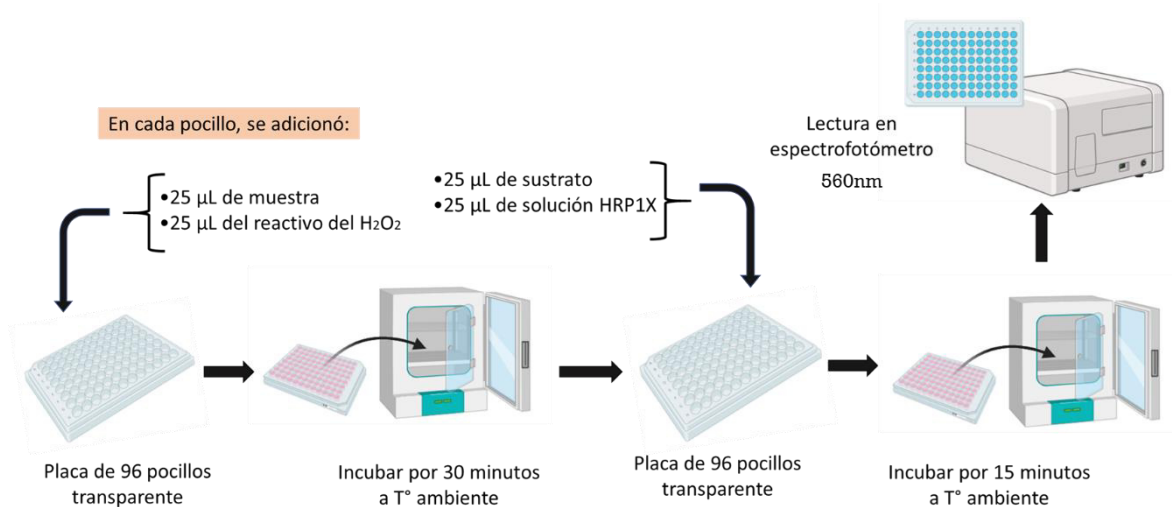


Figura 14. Flujograma del ensayo para la determinación de la actividad enzimática de la catalasa en hipotálamo, corteza frontal, hipocampo y cuerpo estriado de ratas.

3.7.2 Metodología del ensayo de la actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD)

Para este ensayo, se utilizó el kit de ensayo de actividad colorimétrica de superóxido dismutasa de acuerdo con las pautas del fabricante. Este kit está diseñado para medir la actividad de todos los tipos de SOD en diversos tejidos y células de mamíferos (superóxido dismutasa Cu/Zn; Mn y Fe) y se ha caracterizado a partir de SOD humano, pero se puede extrapolar a muestras de otras especies animales (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, MA, EE. UU.). La SOD tiene actividad enzimática altamente conservada en todos los tejidos de mamíferos. Los ROS son producidos durante el metabolismo aeróbico normal. Estos radicales libres son removidos o convertidos a otros productos in vivo por la actividad de enzimas específicas incluyendo una variedad de SOD que juegan un rol importante en la eliminación del O_2^- . El SOD Cu/Zn (SOD1) es el mayor SOD intracelular. El MnSOD (SOD2) es la superóxido dismutasa mitocondrial, con similares propiedades al SODFe encontrados en plantas y bacterias. La SOD3 es la superóxido dismutasa extracelular primaria y puede detectarse en suero, plasma, ascitis o líquido sinovial.

3.7.2.1 Preparación de las muestras:

Las regiones cerebrales fueron lavadas vigorosamente con PBS frío antes del procesamiento, esta parte del procedimiento tuvo como objetivo remover residuos de células sanguíneas u otros tejidos no relacionados con la región cerebral a estudiar. Luego, homogenizamos utilizando un sonicador 100mg de tejido con 0,5mL de PBS en frío. Inmediatamente, centrifugamos el homogenizado a 1500xg por 10 minutos a 4°C, en una ultracentrífuga refrigerada (Eppendorf 5702R). Transcurrido el tiempo de centrifugación, colectamos el sobrenadante y realizamos el ensayo colorimétrico inmediatamente.

3.7.2.2 Preparación de los estándares:

Se adicionó 10µL del estándar de SOD a un tubo que contenía 990µL de buffer de ensayo y fue rotulado 92U de SOD /mL, luego se añadió 100µL de buffer de ensayo a cada uno de 7 tubos marcados de la siguiente manera: 46, 23, 11.5, 5.8, 2.9, 1.4 y 0.0 U de SOD /mL. Inmediatamente se realizó diluciones seriadas de mayor a menor concentración utilizando para ello 100µL del estándar previo. En todo este procedimiento fue necesario realizar mezclas vigorosas y los estándares fueron utilizados dentro de las 2 horas de preparación.

3.7.2.3 Procedimiento del ensayo:

Todo el procedimiento fue realizado a temperatura ambiente, para ello hemos utilizado una placa de 96 pocillos transparente, en cada pocillo se adicionó 10µL de la muestra o del estándar, luego se añadió 50µL del reactivo sustrato 1X a cada uno de los pocillos. Inmediatamente se añadió 25µL del sustrato Xantino Oxidasa 1X en cada pocillo y finalmente se incubó por 20 minutos a temperatura ambiente. La lectura fue realizada con un espectrofotómetro (Agilent Technologies, CA, EE. UU) a 450nm. Los valores de densidad óptica se calcularon a partir del ajuste de la curva estándar para obtener la actividad de SOD en U/mL/mg de tejido (Cuadro 6 y Figura 15).

Cuadro 6. Materiales y equipos de laboratorio utilizados para el desarrollo del ensayo de la actividad enzimática de SOD.

Equipo / material	Fabricante
Ultracongeladora (-80°C)	Thermo Scientific, USA
Balanza analítica (0.1mg)	Kern, Alemania
Cabina de flujo laminar	Heal Force, Italia
Espectrofotómetro con monocromador	Agilent Technologies, USA
Refrigeradora (-20°C)	LG, Corea
Centrífuga refrigerada	Eppendorf 5702R, USA
Vortex	Labnet International, USA
Micropipetas 0.5 - 1000µL	Eppendorf, USA
Tubos (1.5mL, 15mL, 50mL)	Eppendorf, USA
Puntas (0.5 - 1000µL)	Thermo Fisher Scientific, USA
Kit de actividad de SOD	Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, USA

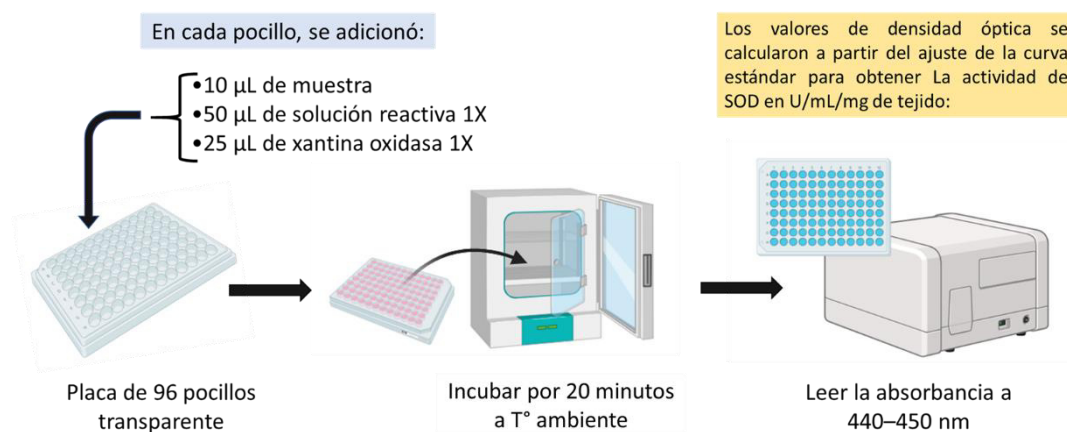


Figura 15. Flujograma del ensayo para la determinación de la actividad enzimática de la superóxido dismutasa en hipotálamo, corteza frontal, hipocampo y cuerpo estriado de ratas.

3.8 Metodología del ensayo molecular

3.8.1 Elaboración del primers

En la página Primer BLAST, del National Library of Medicine (NIH) se ingresó a Nucleotidos y en el buscador se ingresó el nombre de la especie en mención *rattus norvegicus*, con la palabra mRNA e inmediatamente adicionar cada uno de los genes relacionados a estrés oxidativo (*SOD2*, *NRF2*, *GPx1*), muerte celular (*BCL2*, *CASP3*, *BAX*, *BNIP3*, *APAF-1*, *AKT1*), y de inflamación (*TNF-α*, *NFκB*, *COX-2*). Seguidamente, se obtuvieron los primers de cada gen tanto el sentido como el antisentido con una extensión de 70 a 300 pb (Cuadro 7).

Cuadro 7. Secuencias sentido y antisentido de genes relacionados con el estrés oxidativo, la muerte celular y la inflamación de ratas.

Gen	Sentido	Antisentido
Normalizador		
GAPDH (gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa)	5'-TCCCTGTTCTAGAGACAG -3'	5'- CCACTTTGTCACAAGAGA-3'
Estrés oxidativo		
SOD2 (superóxido dismutasa 2)	5'-ACGCGACCTACGTGAACAATCT-3'	5'-CAGTGCAGGCTGAAGAGCAA-3'
NRF2 (factor nuclear relacionado con el eritroide 2)	5'-TGTAGATGACCATGAGTCGC-3'	5'-TGTCTGCTGTATGCTGCTT-3'
GPx1 (glutación peroxidasa 1)	5'-TCAGTTCGGACATCAGGAGA-3'	5'-GAAGGTAAAGAGCGGGTGAG-3'
Muerte celular		
BCL2 (linfoma de células B 2)	5'-GTACCTGAACCGGCATCTG-3'	5'-GGGGCCATATAGTTCCACAA-3'
CASP3 (caspasa 3)	5'-AATTCAAGGGACGGGTCATG-3'	5'-GCTTGTGCGCGTACAGTTTC-3'
BAX (proteína X asociada a BCL2)	5'-CTGCAGAGGATGATTGCTGA-3'	5'-GATCAGCTCGGGCACTTTAG-3'
BNIP3 (proteína 3 que interactúa con BCL2)	5'-TTTAAACACCCGAAGCGCA-3'	5'-TGAGCAGAAGGCAGATCCAA-3'
APAF-1 (factor activador de la proteasa apoptótica 1)	5'-TTCAGGTTTGTAGCTCGGCA-3'	5'-ACCCAAGGATCCCAAACGTC-3'
AKT1 (serina/treonina quinasa 1 de AKT)	5'-CACCGCTTCTTGCCAACAT-3'	5'-CACACACTCCATGCTGTCATCT-3'
Inflamación		
TNF-α (factor de necrosis tumoral alfa)	5'-ATCCGAGATGTGGAACCTGGC-3'	5'-AAATGGCAAATCGGCTGACG-3'
NFκB (factor nuclear kappa B)	5'-ATATTACCTGCACGCCAC-3'	5'-GGTTTGCAAAGCCAACACC-3'
COX-2 (ciclooxigenasa 2)	5'-CAGGAGAGAAAGAAATGGCTGC-3'	5'-TGGTCTCCCAAAGATAGCATC-3'

3.8.2. Extracción de RNA total

Para este ensayo hemos usado el kit de extracción de RNA Insolation, Nucleospin RNA plus (Macherey-Nagel, Alemania).

Homogeneizado del tejido. Se han seguido las instrucciones del fabricante para obtener una buena concentración de ARN. Se han utilizado regiones cerebrales que tenían un peso aproximadamente de 30 mg. Las regiones cerebrales fueron homogenizadas mecánicamente con 350 µL del buffer LBP suministrado por el fabricante.

Remoción del gADN y filtrado del lisado. Se ha colocado la columna de remoción de gADN nucleospin de color amarillo en tubo de colección de 2mL. Se transfirió el tejido homogenizado a la columna de remoción gADN nucleospin y se centrifugó a 11 000 x g por 30 segundos. Se descartó la columna y se continuó trabajando con el filtrado obtenido.

Ajuste de la unión del ARN. Al filtrado se le adiciona 100 µL de la solución BS y se le mezcla vigorosamente varias veces utilizando una micropipeta. Se transfirió esta nueva mezcla a la columna de sílice azul nucleospin ARN Plus, que está ensamblada a un tubo de colección de 2 mL. Se centrifugó a 11 000 x g por 15 segundos, y se descartó el centrifugado.

Lavado y secado de la membrana sílice. Añadimos 200 µL del buffer WB1 al nucleospin ARN plus y lo centrifugamos a 11 000 x g por 15 segundos, inmediatamente descartamos el centrifugado. Añadimos 600 µL de buffer WB2 a 11 000 x g por 15 segundos. Añadimos 250 µL del buffer WB2 y centrifugamos a 11 000 x g por 2 minutos.

Eluir ARN. Cambiamos el tubo de colección y añadimos a la columna nucleospin ARN plus 30 µL de agua libre de RNAasas y centrifugamos a 11 000 x g por 1 minuto. El centrifugado contiene el ARN total que se almacenó a -80 °C para su posterior análisis.

3.8.3. Síntesis de cDNA

Para el ensayo de retrotranscripción se utilizó el kit cDNA UltraScript® Separate Oligos (PCRBIO SYSTEMS, Reino Unido).

El kit de síntesis de ADN complementario cDNA UltraScript® Separate Oligos utiliza los últimos avances en tecnología de transcriptasa inversa y química de tampones para

mejorar la velocidad y el rendimiento de la síntesis de ADNc. El kit contiene todos los componentes necesarios para la síntesis de ADNc, incluido el oligo(dT)₁₈.

El kit utiliza la transcriptasa inversa UltraScript® (RTasa), una transcriptasa inversa MMLV modificada que es termoestable y extremadamente activa. La RTasa no es inhibida por los ARN ribosómicos y de transferencia, lo que hace que el ARN total sea un sustrato ideal. La enzima se mezcla con un inhibidor de ARNasa que evita la degradación del ARN por contaminación de ARNasa.

Para este ensayo hemos utilizado la siguiente mezcla: 4 µL del tampón UltraScript® 5X, 1 µL de 20X UltraScript® ADNc síntesis, 5-15 µL de muestra (RNA), y H₂O grado PCR, hasta un volumen final de 20 µL.

Inmediatamente, se realizó la incubación a 42 °C durante 30 minutos para la síntesis de ADNc, y otra incubación a 85 °C durante 10 minutos para desnaturalizar la RTasa. Este proceso se realizó con un termociclador CFX (Biorad, USA).

El ADNc obtenido fue congelado a -80°C para su posterior análisis molecular.

3.8.4 qPCR cuantitativa

Para el ensayo de qPCR cuantitativa se ha usado el Master Mix FastGene IC green Universal MIX (Nippon Genetics, Alemania) bajo las indicaciones del fabricante. Este master mix lo utilizamos cuando el tamaño del amplicón debe estar entre 80 y 300pb, con una temperatura de fusión de 60°C. Para la reacción es necesario utilizar como mínimo 10µL del master mix, cebador sentido entre 1-2µL, cebador antisentido entre 1-2µL, 1 a 2µL de ADNc (aproximadamente 100ng de ADNc) y X µL de agua hasta alcanzar un volumen final de la reacción de 20µL.

Toda la reacción fue colocada en microplacas de 96 pocillos para PCR (Biorad, USA) y cubiertas con selladores plastificados adherentes (Biorad, USA) (Cuadro 8 y Figura 16).

Las condiciones para la termociclación fue la siguiente:

- Desnaturalización inicial, 95 °C, 2 minutos, 1 ciclo.
- Desnaturalización, 95 °C, 5 segundos, 40 ciclos.
- Alineamiento y elongación, 60-65 °C, 20-30 segundos, 40 ciclos.

Cuadro 8. Materiales y equipos de laboratorio utilizados para el desarrollo del ensayo molecular.

Equipo / material	Fabricante
Ultracongeladora (-80°C)	Thermo Scientific
Balanza analítica (0.1mg)	Kern
Cabina de flujo laminar	Heal Force
Espectrofotómetro NanoDrop Lite Plus	Thermo Scientific
Refrigeradora (-20°C)	LG
Centrífuga refrigerada	Eppendorf 5702R
Vortex	Labnet International
Micropipetas 0.5 - 1000µL	Eppendorf
Tubos (1.5mL, 15mL, 50mL)	Eppendorf
Puntas (0.5 - 1000µL)	Thermo Fisher Scientific
kit de extracción RNA Insolation, Nucleospin RNA plus	Macherey-Nagel, Alemania
kit cDNA UltraScript® Separate Oligos	PCRBIO SYSTEMS, Reino Unido
Master Mix FastGene IC green Universal MIX	Nippon Genetics, Alemania

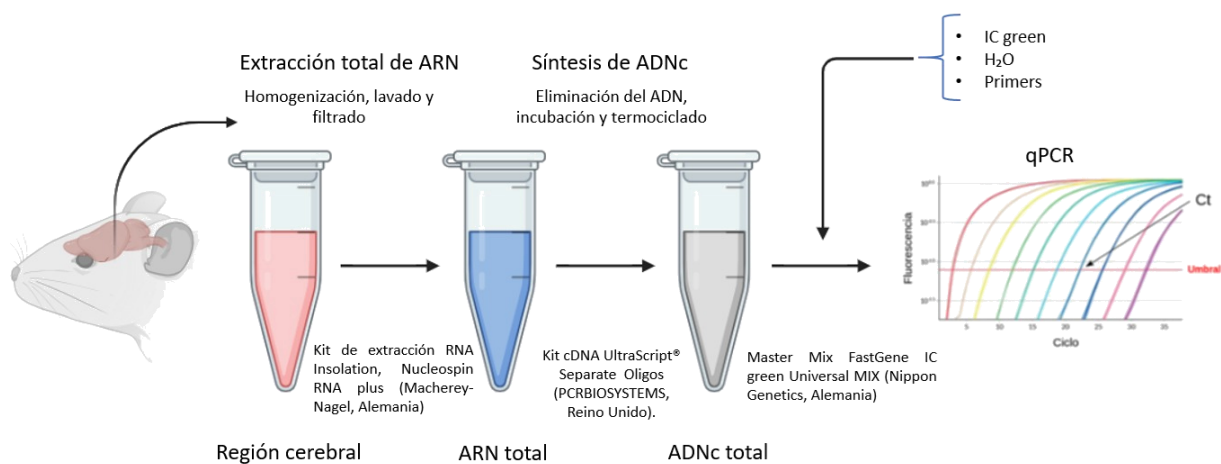


Figura 16. Flujograma del ensayo molecular involucrado en la cuantificación de expresión génica en hipotálamo, corteza frontal, hipocampo y cuerpo estriado de ratas. Se utilizó la PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR).

3.9 Análisis estadístico

Los datos se analizaron utilizando el software estadístico GraphPad Prism 8 (GRAPHPAD SOFTWARE, BOSTON, USA.). Los resultados fueron normalizados respecto del control y se presentan como porcentajes (%) o “fold change”. Los datos se expresan como media $\pm$ SEM (error estándar de la media) en todos los grupos (nivel del mar, A1, A2 y tiempo de exposición). Las diferencias significativas entre los grupos (altitud y tiempo de exposición) se evaluaron utilizando el análisis de varianza (ANOVA) de dos vías, seguida de la prueba post hoc de Tukey, para garantizar una mejor performance de los resultados. Para resaltar las diferencias significativas de nuestros resultados se consideró el uso de * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ o *** $p < 0.001$, para determinar la diferencia significativa entre las variables altitud (C, A1 y A2). Y las letras a, b, c, d y e para los $p < 0.05$ para determinar la diferencia estadística significativa de la variable tiempo de exposición a la altura (1,3,7,14 y 28 días).

IV. RESULTADOS

4.1. Evaluación de la producción de ROS en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental

Se obtuvieron los siguientes resultados referentes a la producción de ROS en las regiones cerebrales del hipotálamo, corteza frontal, hipocampo y cuerpo estriado de ratas que fueron expuestas al nivel del mar (C) y a altitudes de 3151 m. s. n. m. (A1) y 4214 m. s. n. m. (A2) durante intervalos de exposición de 1, 3, 7, 14 y 28 días:

4.1.1 Producción de ROS en hipotálamo

Cuando se evaluó la producción de ROS por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó que solo al día 7 de exposición (7A1 y 7A2) los niveles de ROS se incrementaron significativamente en 168 % y 150 %, respectivamente ($***p \leq 0.001$). Cuando se evaluó la producción de ROS por efecto de la hipoxia ambiental según periodo de exposición, se encontraron incrementos significativos en los días 7 (7A1 y 7A2) y 28 (28A1) con respecto a los tiempos de exposición (Figura 17).

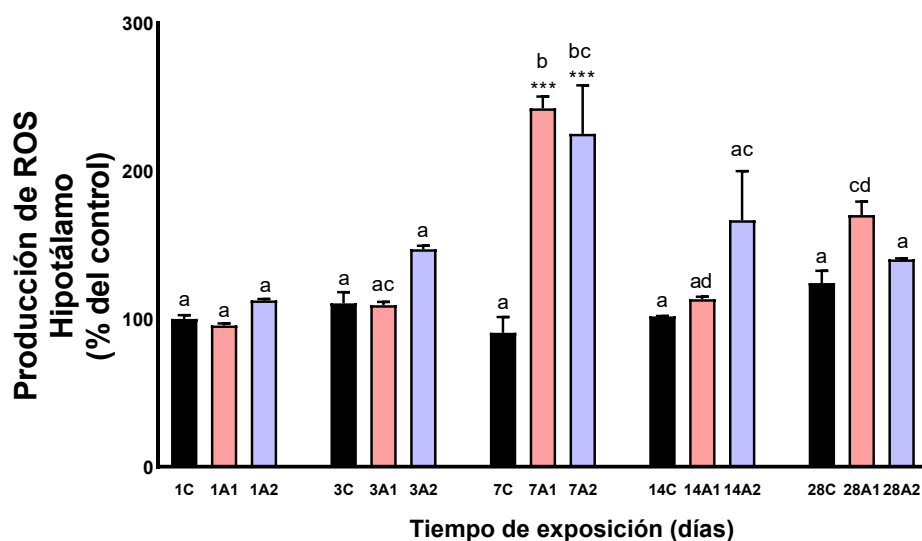


Figura 17. Producción de ROS en hipotálamo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan como variaciones porcentuales (%) del control a partir de unidades de fluorescencia, y se presentan como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada periodo se indican como *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b,c,d} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.1.2 Producción de ROS en corteza frontal

Se observó un incremento significativo de ROS al día 3 (3A2) en un 101 %, al día 7 (7A1) en un 66%, al (7A2) en un 114%, al día 14 (14A2) en un 91 %, y al día 28 (28A2) en un 102 % por efecto de la altitud. Sin embargo, se encontraron incrementos significativos de ROS a los días 7 (7A1 y 7A2) y 28 (28A2) por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental (Figura 18).

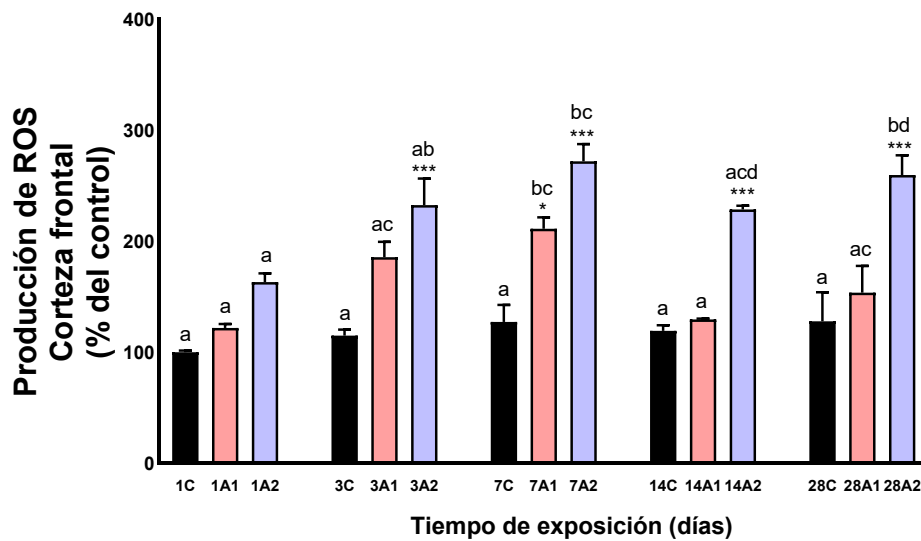


Figura 18. Producción de ROS en corteza frontal de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan como variaciones porcentuales (%) del control a partir de unidades de fluorescencia, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como * $p \leq 0.05$, *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b,c,d} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.1.3 Producción de ROS en hipocampo

La producción de ROS se incrementó significativamente en el día 1 (1A2) en un 244%, al día 3 (3A2) en un 118%, al día 7 (7A1) en un 109%, al día 14 (14A1) en un 119%, (14A2) en un 167% y al día 28 (28A2) en un 85% con respecto a los controles. Respecto a la producción de ROS por efecto del tiempo de exposición, se encontraron incrementos significativos en los días 7 y 14 a la altura 1 (7A1, 14A1); mientras que al día 1 con la A2 (1A2) fue el día donde se produjo mayores niveles de ROS respecto a los otros puntos temporales (Figura 19).

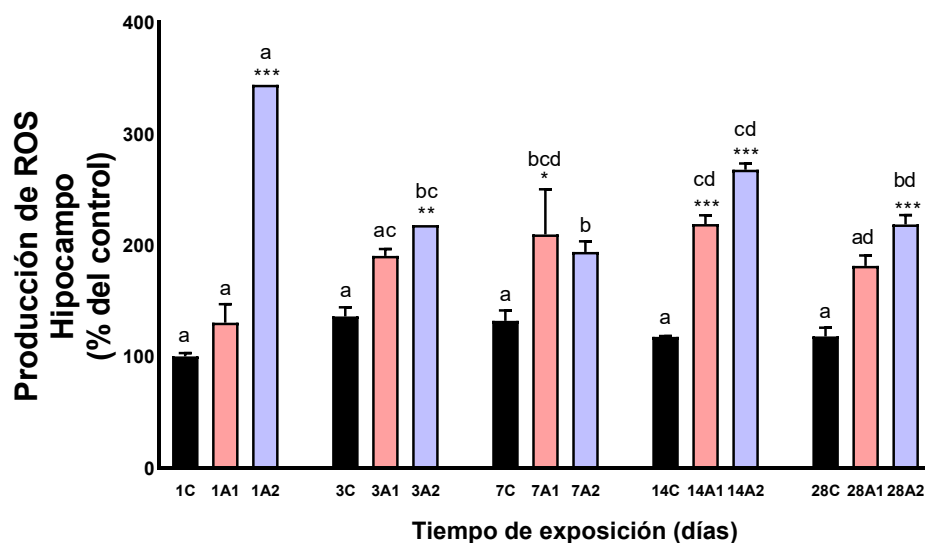


Figura 19. Producción de ROS en hipocampo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan como variaciones porcentuales (%) del control a partir de unidades de fluorescencia, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b,c,d} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.1.4 Producción de ROS en cuerpo estriado

Se observó un incremento significativo de producción de ROS en el día 1 (1A1) en un 68%, al día 3 (3A1) en un 56%, al día 7 (7A1) en un 132%, (7A2) en un 94%, al día 14 (14A1) en un 159%, (14A2) en un 71%, y al día 28 (28A1) en un 57%. Cuando se evaluó la producción de ROS por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontraron incrementos significativos a los días 7 (7A1 y 7A2) y 14 (14A1), respecto del resto de días de exposición (Figura 20).

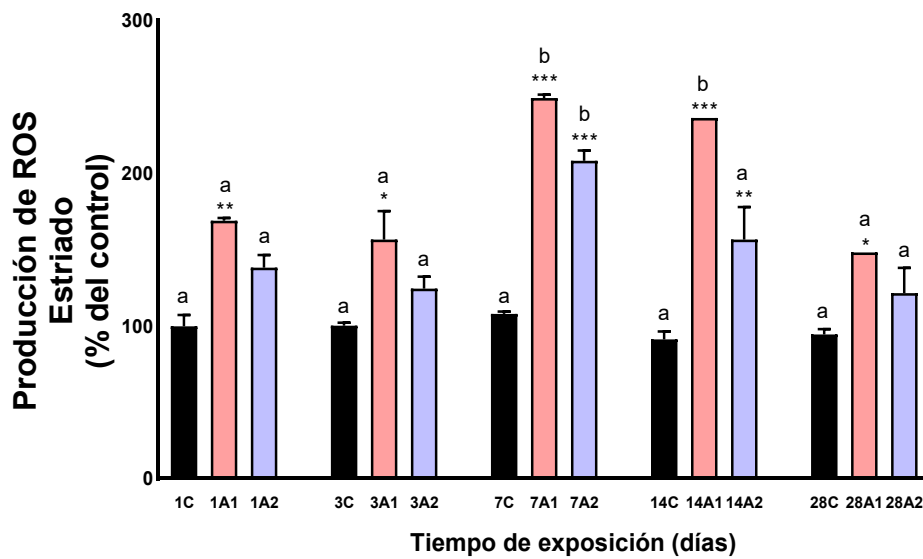


Figura 20. Producción de ROS en cuerpo estriado de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan como variaciones porcentuales (%) del control a partir de unidades de fluorescencia, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.2. Evaluación de los niveles de MDA en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental

Se obtuvieron los siguientes resultados referentes a los niveles de malondialdehído (MDA) en las regiones cerebrales del hipotálamo, corteza frontal, hipocampo y cuerpo estriado de ratas que fueron expuestas al nivel del mar (C) y a altitudes de 3151 m. s. n. m. (A1) y 4214 m. s. n. m. (A2) durante periodos de exposición de 1, 3, 7, 14 y 28 días.

4.2.1 Niveles de MDA en hipotálamo

Cuando se evaluó la producción de MDA por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó que hubo un incremento significativo en el día 1

(1A2) en un 79%. Cuando se evaluaron los niveles de MDA por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontraron una disminución significativa solo al día 28 (28A2) con respecto al resto de días de exposición (Figura 21).

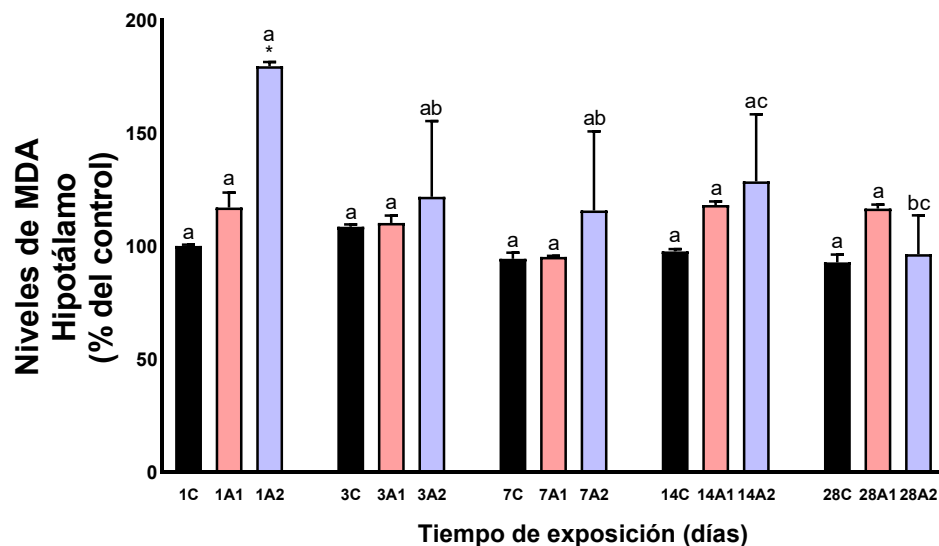


Figura 21. Niveles de MDA en hipotálamo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como $*p \leq 0.05$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras ($^{a,b,c}p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.2.2 Niveles de MDA en corteza frontal

Se observó un incremento significativo en el día 1 (1A2) en un 156%, en el día 3 (3A1) en un 79%, (3A2) en un 74%, en el día 7 (7A1) en un 77%, en el día 14 (14A1) en un 100%, (14A2) en un 98% y al día 28 (28A1) en un 111%. Cuando se evaluaron los niveles de MDA por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró un aumento significativo a los días 14 y 28 de exposición a la altura 1 (14A1, 28A1); mientras que se encontró una disminución significativa a los 7 y 28 días de exposición a la altura 2 (7A2, 28A2) (Figura 22).

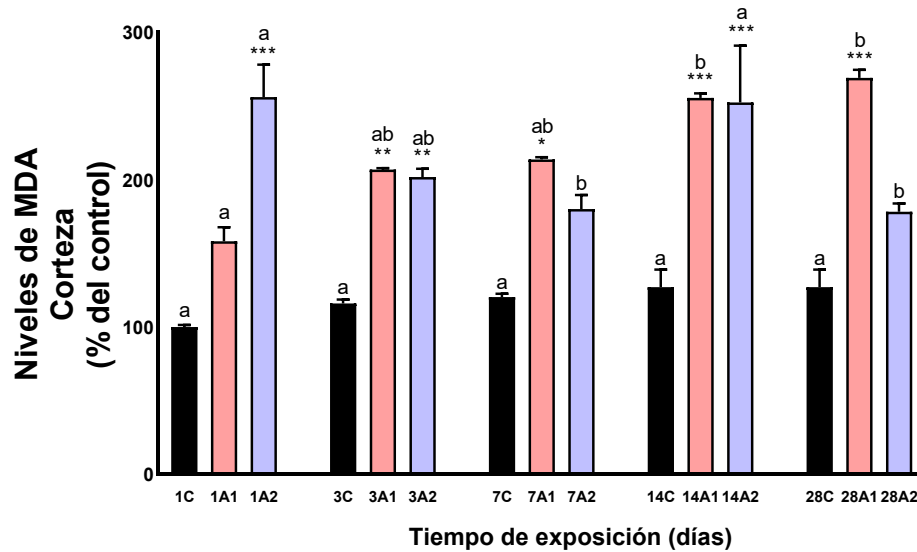


Figura 22. Niveles de MDA en corteza frontal de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.2.3 Niveles de MDA en hipocampo

Se observó un incremento significativo en el día 1 (1A1) en un 70%, (1A2) en un 87%, en el día 3 (3A1) en un 116%, (3A2) en un 95% y en el día 7 (7A1) en un 84%, (7A2) en un 68%. Por otro lado, se encontró un aumento significativo de los niveles de MDA por efecto del tiempo expuesto a hipoxia ambiental, al día 3 de exposición (3A1; 3A2) y al día 7(7A1) de exposición, mientras que se encontró una disminución significativa a los 14 y 28 días de exposición a la altura 2 (14A2, 28A2) (Figura 23).

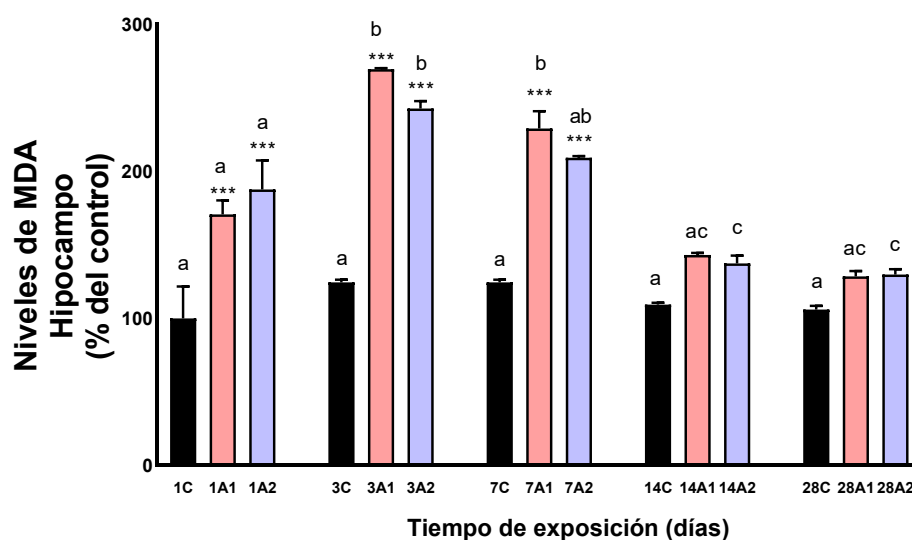


Figura 23. Niveles de MDA en hipocampo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b,c} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.2.4 Niveles de MDA en cuerpo estriado

Se observó un incremento significativo en el día 1 (1A1) en un 68%), en el día 3 (3A2) en un 61%, en el día 7 (7A2) en un 166% y en el día 14 (14A2) en un 106%. Los niveles de MDA evaluados por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró un aumento significativo al día 7 (7A2) y una disminución significativa a los 28 (28A1) de exposición (Figura 24).

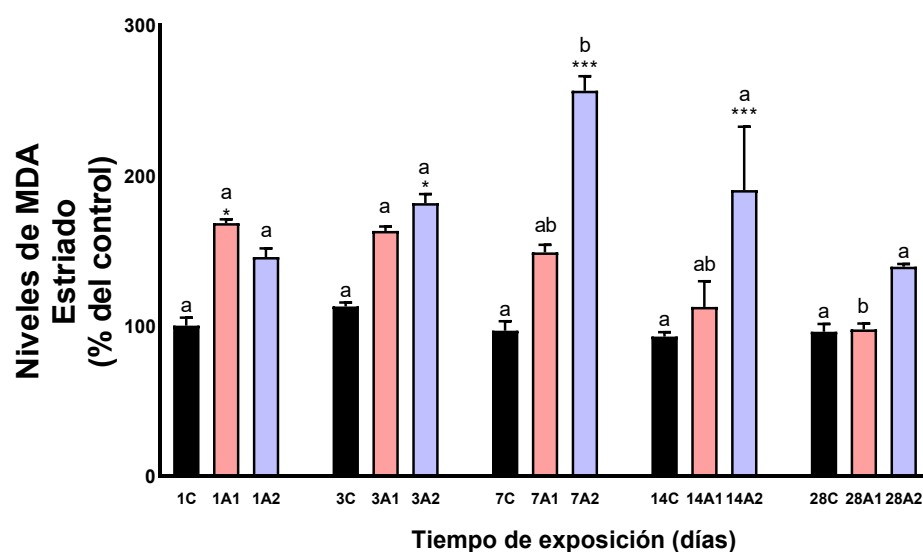


Figura 24. Niveles de MDA en cuerpo estriado de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como * $p \leq 0.05$, *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.3. Evaluación de la actividad de la enzima catalasa en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental

Se obtuvieron los siguientes resultados respecto a la actividad de la enzima catalasa en las regiones cerebrales del hipotálamo, corteza frontal, hipocampo y cuerpo estriado de ratas expuestas al nivel del mar (C) y a altitudes de 3151 m. s. n. m. (A1) y 4214 m. s. n. m. (A2) durante intervalos de exposición de 1, 3, 7, 14 y 28 días.

4.3.1 Actividad de la enzima catalasa en hipotálamo

Cuando se evaluó la actividad de la enzima catalasa por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se encontró una disminución significativa a los 3 días

(3A2) en un 30%) y 14 días (14A2) en un 46% de exposición. Por otro lado, cuando se evaluó la actividad de la enzima catalasa por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró una disminución significativa al día 14 (14A2) de exposición (Figura 25).

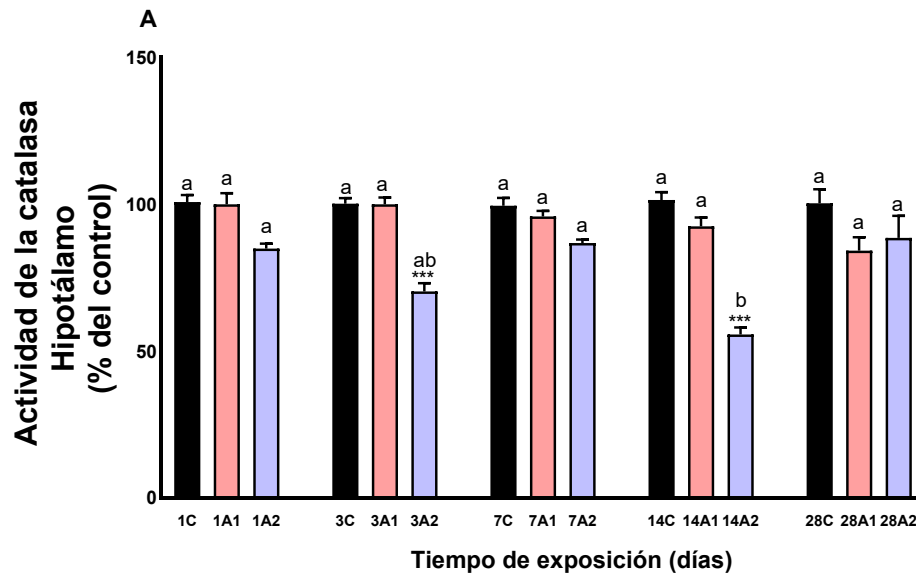


Figura 25. Actividad de la enzima catalasa en hipotálamo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.3.2 Actividad de la enzima catalasa en corteza frontal

Se observó una disminución significativa al día 3(3A2) en un 30%, en el día 7 (7A2) en un 25%, y al día 14 (14A2) en un 13%; mientras que cuando se evaluó la actividad de la enzima catalasa por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró una disminución significativa a los 3, 7 y 14 días (3A2, 7A2, 14A2) de exposición (Figura 26).

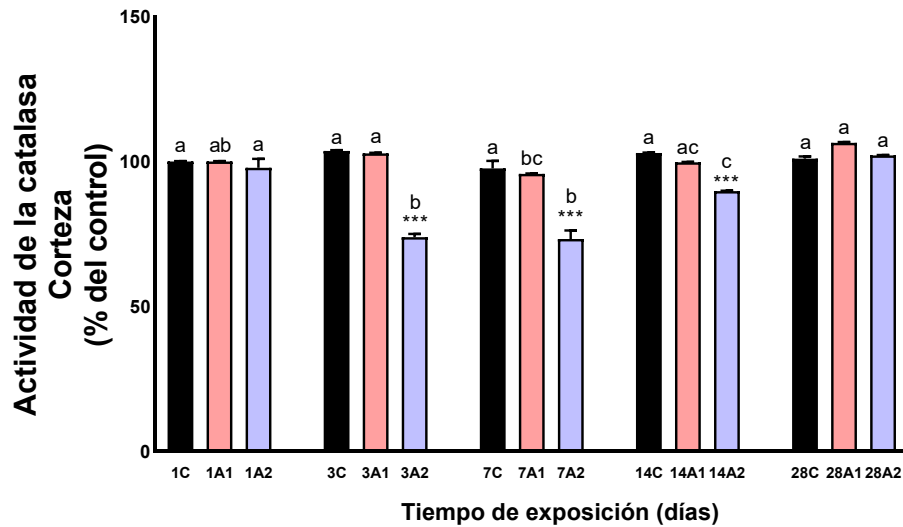


Figura 26. Actividad de la enzima catalasa en corteza frontal de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b,c} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.3.3 Actividad de la enzima catalasa en hipocampo

Se observó una disminución significativa en el día 3 (3A1) en un 31%, (3A2) en un 29%, en el día 7 (7A2) en un 26%, en el día 14 (14A1) en un 19%, (14A2) en un 13%. Sin embargo, se observó un aumento significativo en el día 1 (1A1) en un 2% y en el día 7 (7A1) en un 5%; mientras que, cuando se evaluó la actividad de la enzima catalasa por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró una disminución significativa a los días 3 (3A1; 3A2), 7 (7A2), y 14 días (14A1, 14A2) de exposición (Figura 27).

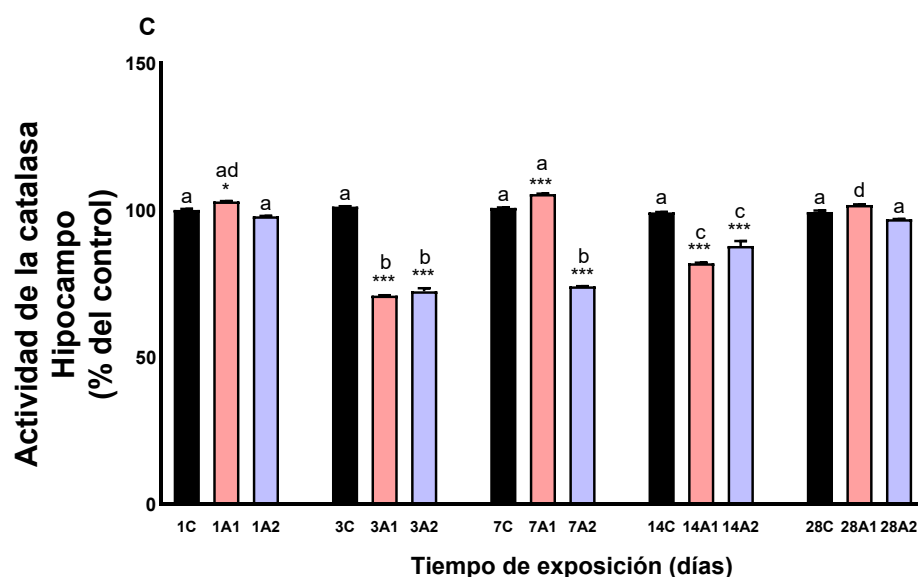


Figura 27. Actividad de la enzima catalasa en hipocampo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como * $p \leq 0.05$, *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b,c,d} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.3.4 Actividad de la enzima catalasa en cuerpo estriado

Se observó una disminución significativa en el día 3 (3A2) en un 31%, en el día 7 (7A2) en un 13%, en el día 14 (14A2) en un 15% y en el día 28 (28A1) en un 14%. Sin embargo, se encontró un aumento significativo al día 1 (1A2) en un 3% y al día 7 (7A1) en un 3%. Por otro lado, se encontró una disminución significativa de la actividad de la enzima catalasa por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental en los días 3 (3A2), 7 (7A2), 14 (14A1, 14A2) y 28 días (28A1), pero se encontró un aumento significativo en los días 7 (7A1) y 14 (14A1) de exposición (Figura 28).

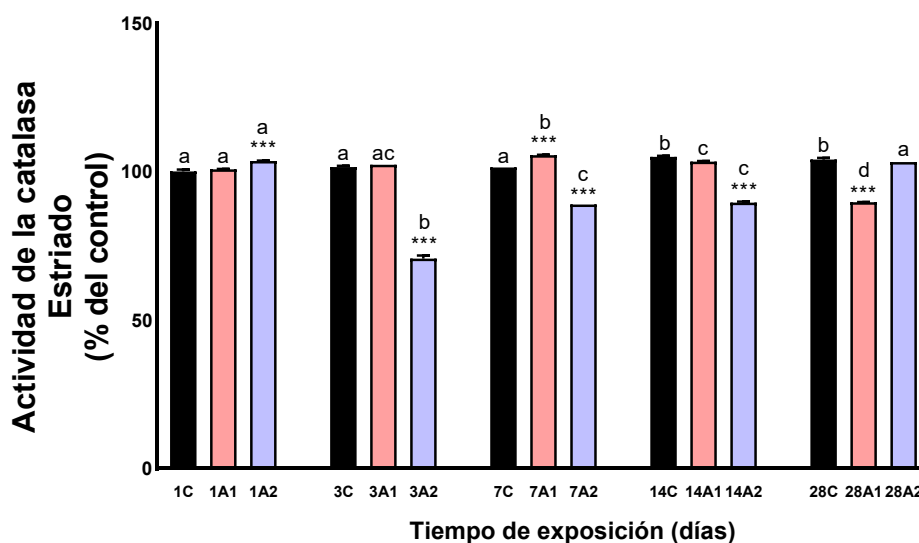


Figura 28. Actividad de la enzima catalasa en cuerpo estriado de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como ^{***} $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b,c,d} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.4. Evaluación de la actividad de la enzima SOD en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental

Se obtuvieron los siguientes resultados respecto a la actividad de la enzima SOD en las regiones cerebrales del hipotálamo, corteza frontal, hipocampo y cuerpo estriado de ratas que fueron expuestas al nivel del mar (C) y a altitudes de 3151 m. s. n. m. (A1) y 4214 m. s. n. m. (A2) durante intervalos de exposición de 1, 3, 7, 14 y 28 días.

4.4.1 Actividad de la enzima SOD en hipotálamo

Cuando se evaluó la actividad de la enzima SOD por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 3 (3A1) en un 163%, (3A2) en un 356%, en el día 7 (7A1) en un 275%, (7A2) en un 325%; en el día 14

(14A1) en un 366%, (14A2) en un 109% y en el día 28 (28A1) en un 348%, (28A2) en un 133%. Por otro lado, la actividad de la enzima SOD por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental tuvo un aumento significativo en los días 3 (3A1, 3A2), 7(7A1, 7A2), 14 (14A1, 14A2) y 28 (28A1, 28A2) días de exposición (Figura 29).

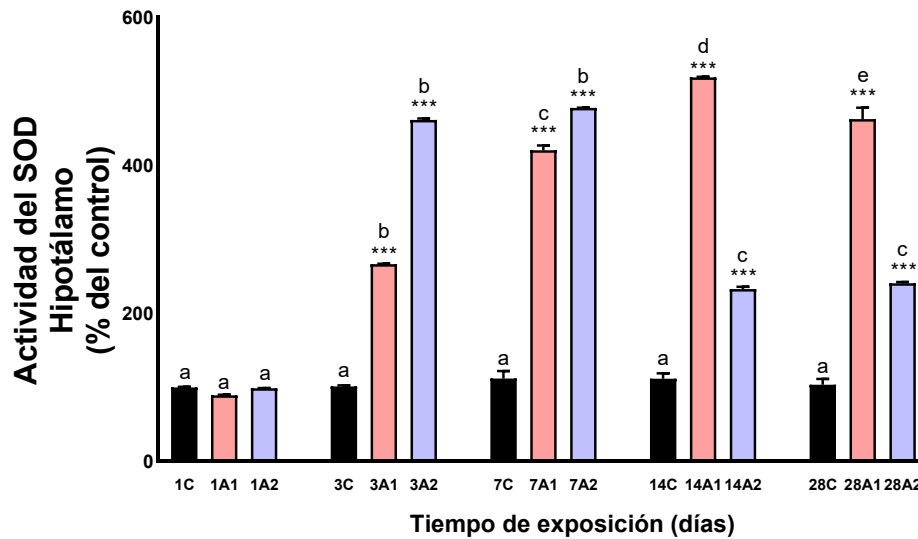


Figura 29. Actividad de la enzima SOD en hipotálamo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b,c,d,e} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.4.2 Actividad de la enzima SOD en corteza frontal

Se observó un aumento significativo en el día 1 (1A1) en un 66%, en el día 3 (3A1) en un 18%, en el día 7 (7A1) en un 401%, (7A2) en un 46%, en el día 14 (14A1) en un 48%, (14A2) en un 69% y en el día 28 (28A1) en un 30%, (28A2) en un 30%, pero con una disminución significativa en el día 3 (3A2, 19%). Por otro lado, cuando se evaluó la actividad de la enzima SOD por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental se encontró un aumento significativo en los días 7(7A1,7A2), 14 (14A2) y 28 (28A2) de exposición y una disminución significativa en el día 14 (14A1) y 28 (28A1) (Figura 30).

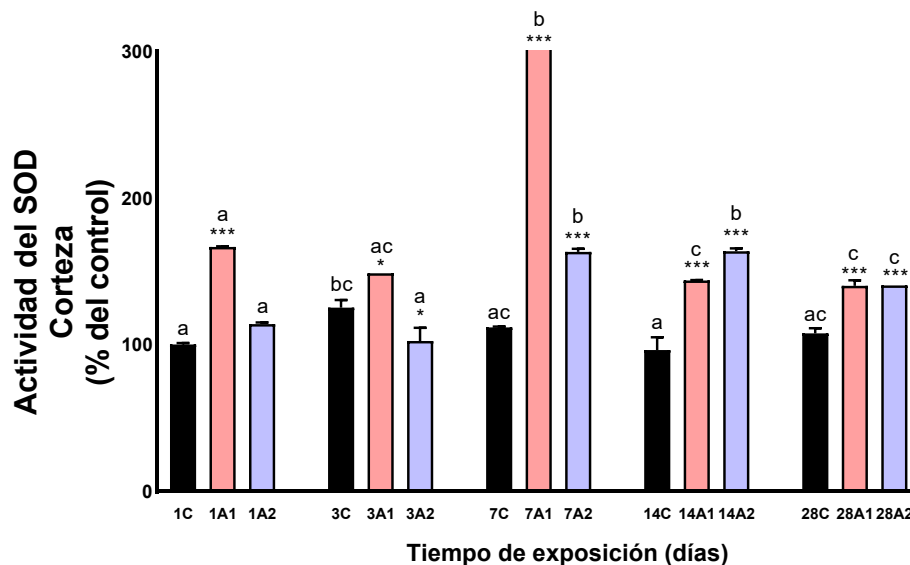


Figura 30. Actividad de la enzima SOD en corteza frontal de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como $*p \leq 0.05$, $***p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras ($a, b, c, p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.4.3 Actividad de la enzima SOD en hipocampo

Se observó un aumento significativo en el día 1 (1A2) en un 115%, en el día 3 (3A1) en un 593%, en el día 7 (7A1) en un 451%, en el día 14 (14A1) en un 257%, (14A2) en un 511% y en el día 28 (28A1) en un 286, (28A2) en un 88%. Además, se observó un aumento significativo de la actividad de la enzima por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental en los días de exposición 3 (3A1), 7(7A1), 14 (14A1, 14A2) y 28 (28A1); sin embargo, se encontró una disminución significativa al día 3 (3A2) (Figura 31).

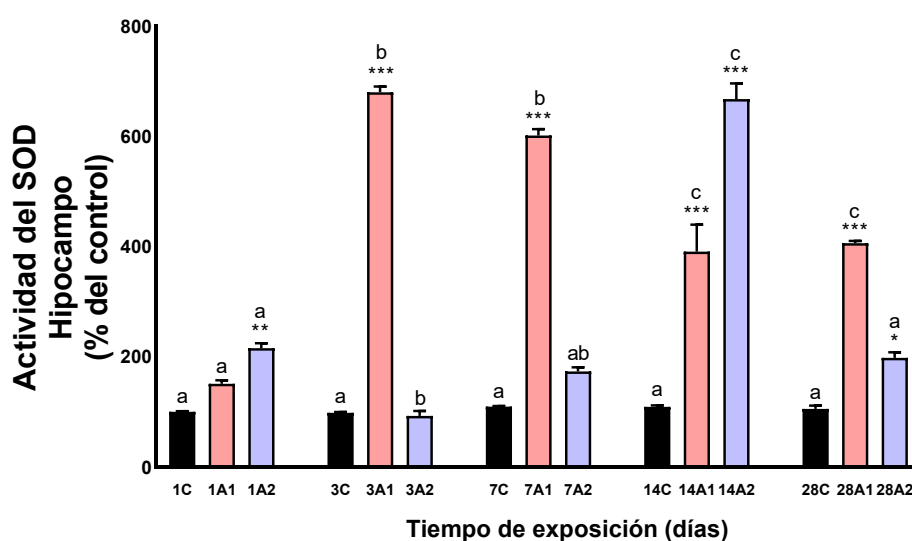


Figura 31. Actividad de la enzima SOD en hipocampo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b,c} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.4.4 Actividad de la enzima SOD en cuerpo estriado

Se observó un aumento significativo en el día 1 (1A2) en un 81%, en el día 3 (3A1) en un 304%, en el día 14 (14A1) en un 294%, (14A2) en un 202% y en el día 28 (28A1) en un 200%. Asimismo, la actividad de la enzima por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental tuvo un aumento significativo en los días de exposición 3 (3A1), 14 (14A1, 14A2) y 28 (28A1); sin embargo, se observó una disminución significativa en los días de exposición 3 (3A2), 7 (7A2) y 28(28A2) (Figura 32).

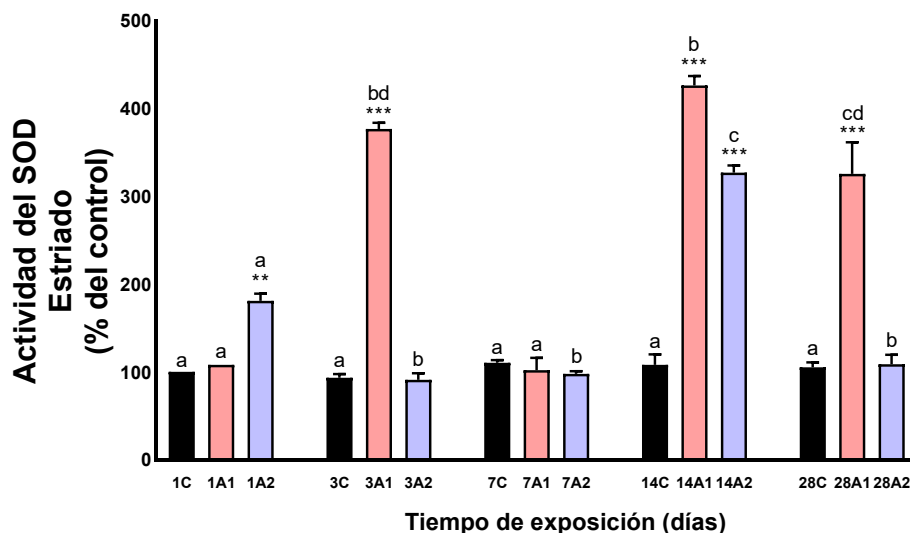


Figura 32. Actividad de la enzima SOD en cuerpo estriado de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b,c,d} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.5. Evaluación molecular de genes relacionados a estrés oxidativo en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental

Se obtuvieron los siguientes resultados respecto a la expresión de los genes relacionados a estrés oxidativo en las regiones cerebrales del hipotálamo, corteza frontal, hipocampo y cuerpo estriado de ratas que fueron expuestas al nivel del mar (C) y a altitudes de 3151 m. s. n. m. (A1) y 4214 m. s. n. m. (A2) durante intervalos de exposición de 1, 3, 7, 14 y 28 días.

4.5.1 Expresión del gen *SOD2* en hipotálamo

Cuando se evaluó la expresión del gen *SOD2* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó una disminución significativa en los días de exposición 3 (3A2) en un 62% y el día 28 (28A2) en un 64% (Figura 33).

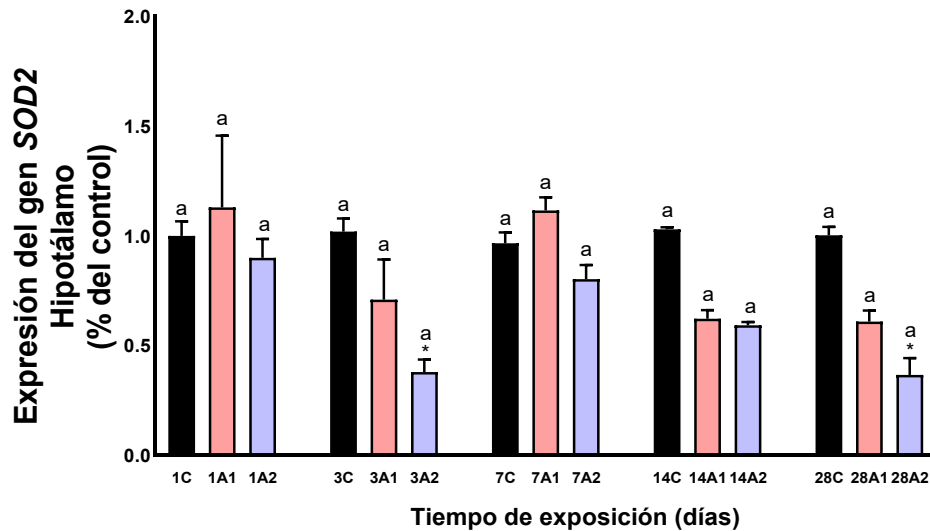


Figura 33. Expresión molecular de *SOD2* en hipotálamo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como $*p \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.5.2 Expresión del gen *SOD2* en corteza frontal

Se observó una disminución significativa de la expresión génica *SOD2* en los días de exposición 3 (3A1) en un 73%; (3A2) en un 80%, el día 7 (7A2) en un 37%, el día 14 (14A1) en un 51%, (14A2) en un 54% y el día 28 (28A1) en un 43%, (28A2) en un 50%. Por otro lado, también se observó una disminución significativa de la expresión génica *SOD2* por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental en los días de exposición 3 (3A1, 3A2), 7 (7A2), 14 (14A1, 14A2) y 28 (28A1, 28A2) (Figura 34).

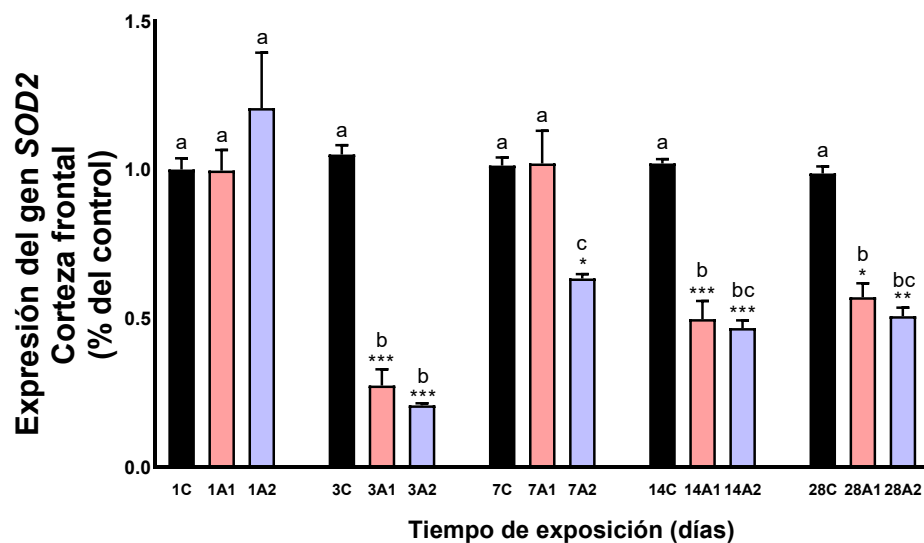


Figura 34. Expresión molecular de *SOD2* en corteza frontal de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b,c} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.5.3 Expresión del gen *SOD2* en hipocampo

Se observó una disminución significativa de la expresión génica *SOD2* en los días de exposición 1 (1A2) y 3 (3A1) hasta en un 84% (Figura 35).

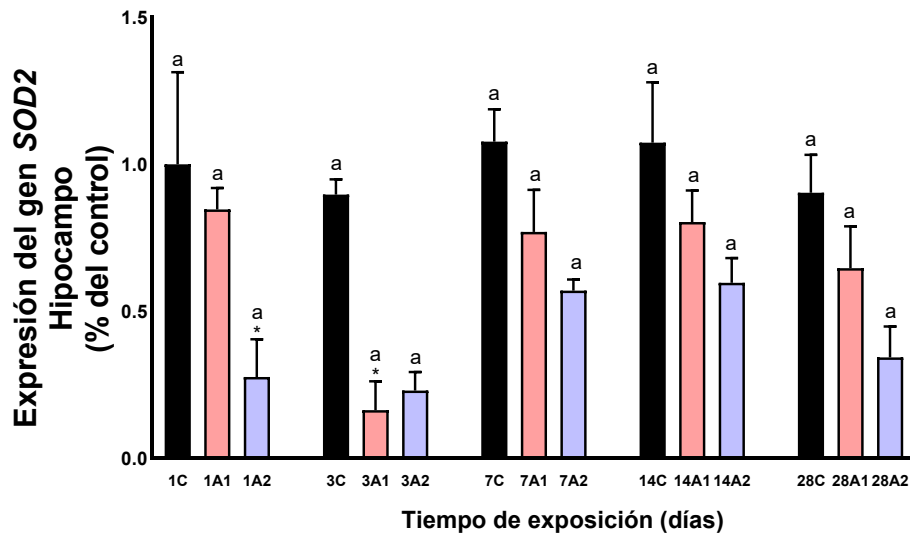


Figura 35. Expresión molecular de *SOD2* en hipocampo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como * $p \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.5.4 Expresión del gen *SOD2* en cuerpo estriado

Se observó una disminución significativa de la expresión del gen *SOD2* en los días de exposición 3 (3A1) en un 89%, (3A2) en un 79% y el día 28 (28A1) en un 46%, (28A2) en un 85% (Figura 36).

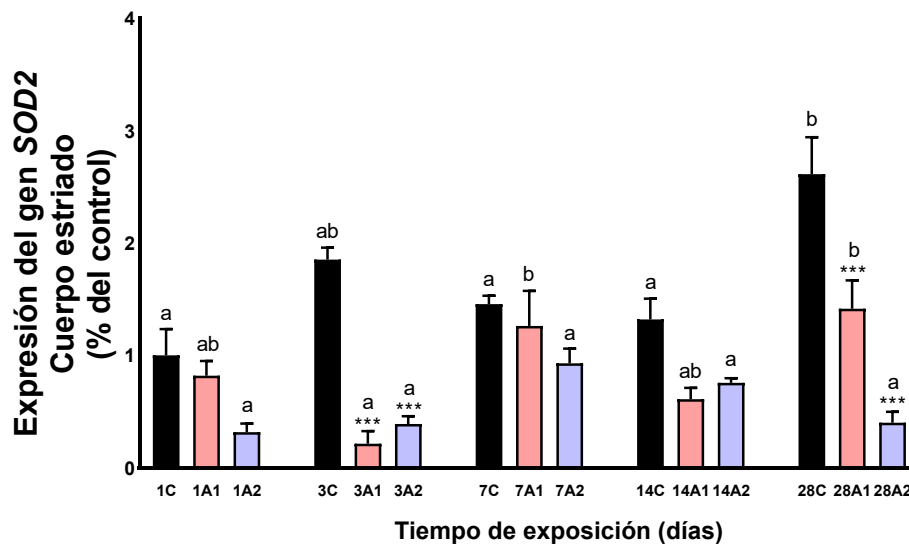


Figura 36. Expresión molecular de *SOD2* en cuerpo estriado de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras ($^{a,b}p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.5.5 Expresión del gen *NRF2* en hipotálamo

Cuando se evaluó la expresión del gen *NRF2* por efecto de la altitud y el tiempo de exposición a la altura no se encontró diferencias estadísticas significativas (Figura 37).

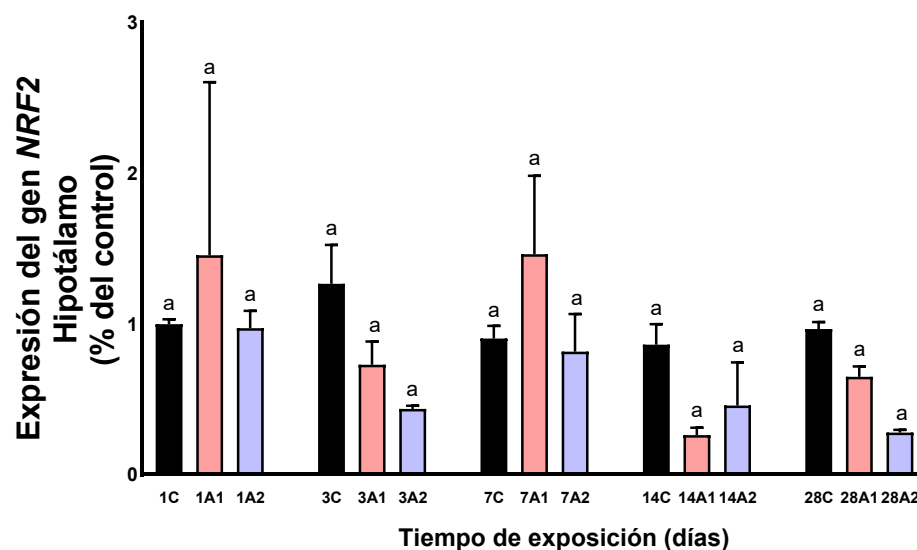


Figura 37. Expresión molecular de *NRF2* en hipotálamo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. A1 (barra roja) y A2 (barra azul).

4.5.6 Expresión del gen *NRF2* en corteza frontal

Se observó una disminución significativa de la expresión del gen *NRF2* por efecto de la altitud (A1 y A2) en el día 3 (3A2) hasta en un 38%; mientras que, cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se observó un aumento significativo en el día 7 (7A1) y una disminución significativa en el día 3 (3A2) de exposición (Figura 38).

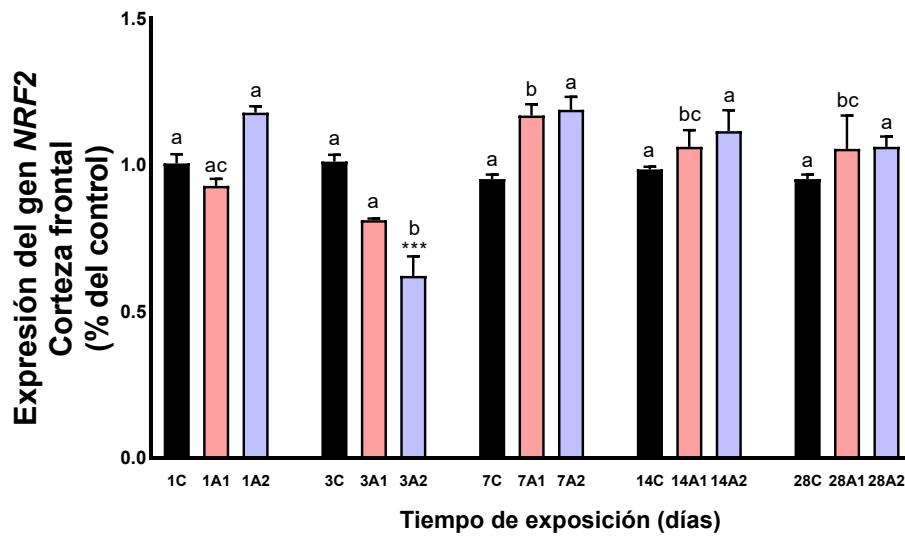


Figura 38. Expresión molecular de *NRF2* en corteza frontal de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b,c} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.5.7 Expresión del gen *NRF2* en hipocampo

Cuando se evaluó la expresión del gen *NRF2* por efecto de la altitud y el tiempo de exposición a la altura no se encontró diferencias estadísticas significativas (Figura 39).

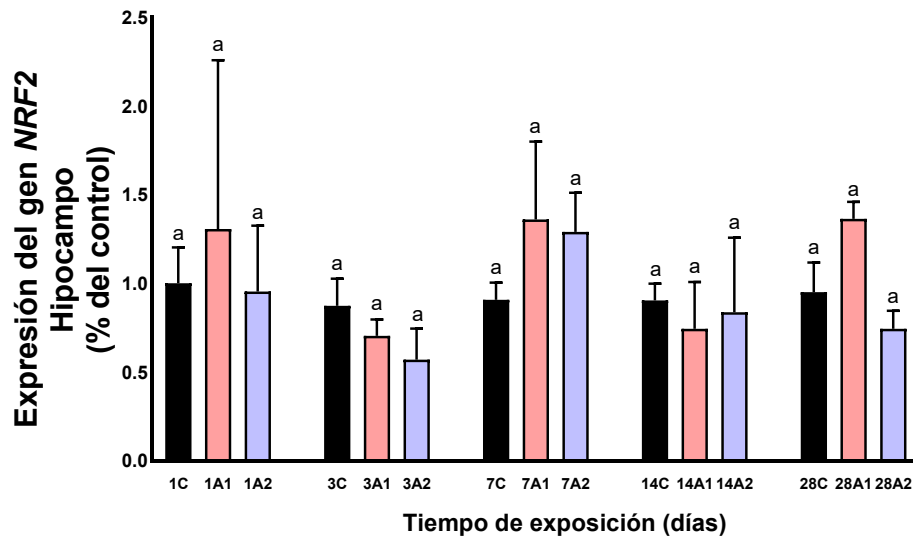


Figura 39. Expresión molecular de *NRF2* en hipocampo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM.

4.5.8 Expresión del gen *NRF2* en cuerpo estriado

Cuando se evaluó la expresión del gen *NRF2* por efecto de la altitud y el tiempo de exposición a la altura no se encontró diferencias estadísticas significativas (Figura 40).

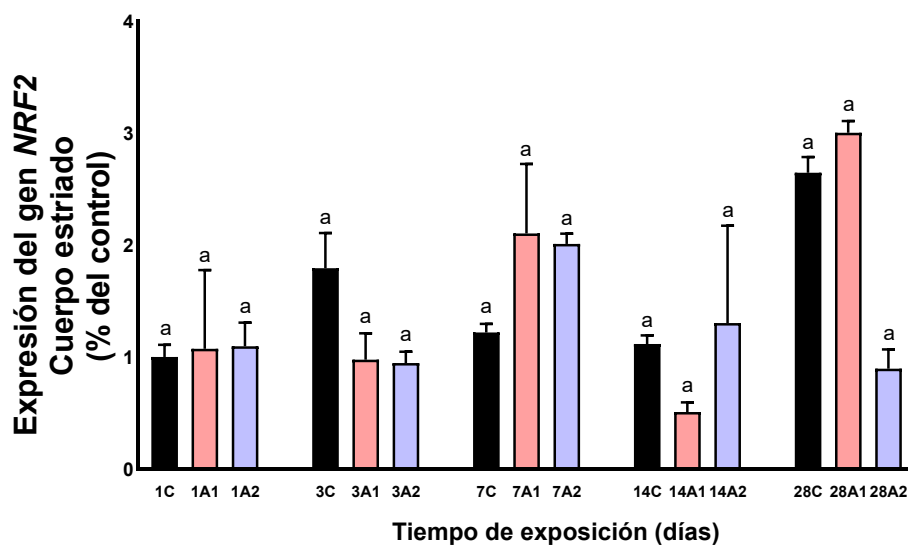


Figura 40. Expresión molecular de *NRF2* en cuerpo estriado de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. A1 (barra roja) y A2 (barra azul).

4.5.9 Expresión del gen *GPx1* en hipotálamo

Cuando se evaluó la expresión del gen *GPx1* por efecto de la altitud y el tiempo de exposición a la altura no se encontró diferencias estadísticas significativas (Figura 41).

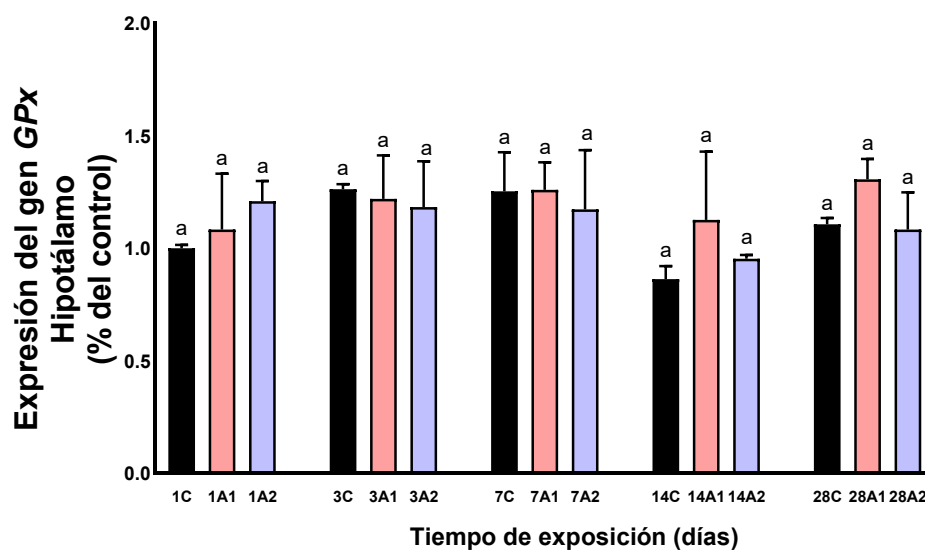


Figura 41. Expresión molecular de *GPx1* en hipotálamo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. A1 (barra roja) y A2 (barra azul).

4.5.10 Expresión del gen *GPx1* en corteza frontal

Cuando se evaluó la expresión del gen *GPx1* por efecto de la altitud y el tiempo de exposición a la altura no se encontró diferencias estadísticas significativas (Figura 42).

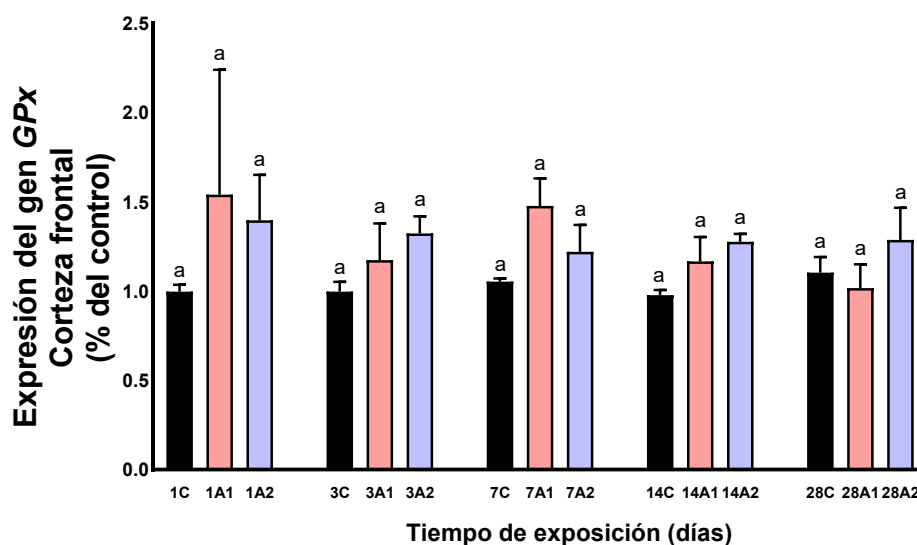


Figura 42. Expresión molecular de *GPx1* en corteza frontal de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. A1 (barra roja) y A2 (barra azul).

4.5.11 Expresión del gen *GPx1* en hipocampo

Cuando se evaluó la expresión del gen *GPx1* por efecto de la altitud y el tiempo de exposición a la altura no se encontró diferencias estadísticas significativas (Figura 43).

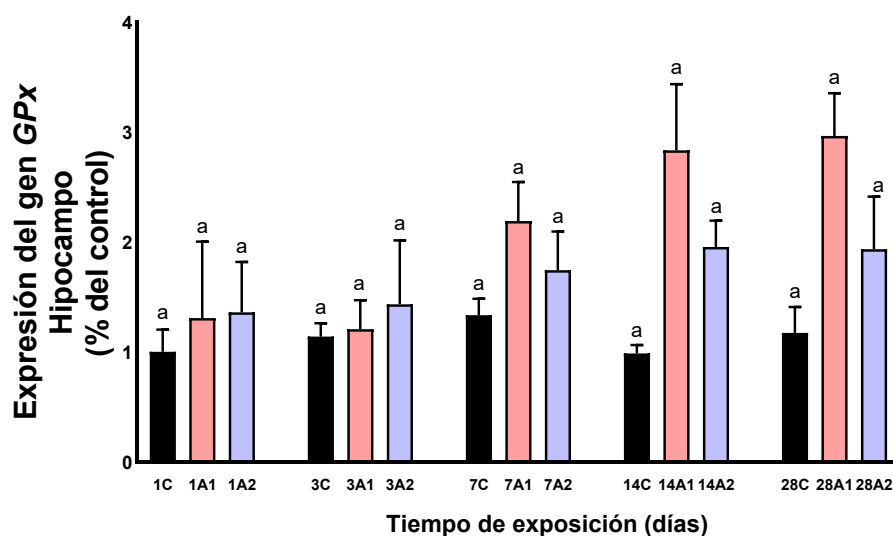


Figura 43. Expresión molecular de *GPxI* en hipocampo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. A1 (barra roja) y A2 (barra azul).

4.5.12 Expresión del gen *GPxI* en cuerpo estriado

Cuando se evaluó la expresión del gen *GPx* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 28 (28A1) en un 101%. Asimismo, cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró un aumento significativo en el día 28 (28A1) de exposición (Figura 44).

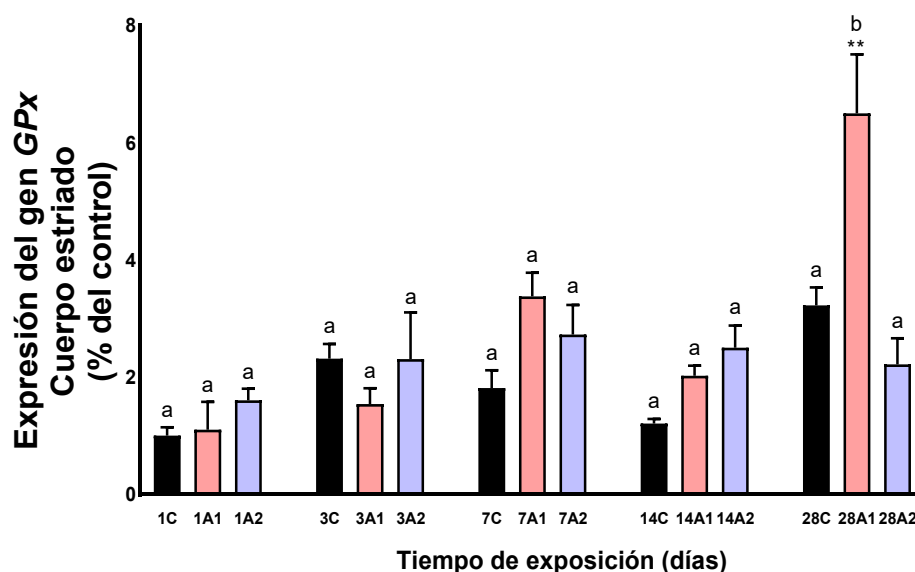


Figura 44. Expresión molecular de *GPx* en cuerpo estriado de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como $^{**}p \leq 0.01$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras ($^{a,b}p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.6. Evaluación molecular de genes relacionados a muerte celular en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental

Se obtuvieron los siguientes resultados respecto a la expresión de los genes relacionados a muerte celular en las regiones cerebrales del hipotálamo, corteza frontal, hipocampo y cuerpo estriado de ratas que fueron expuestas al nivel del mar (C) y a altitudes de 3151 m. s. n. m. (A1) y 4214 m. s. n. m. (A2) durante intervalos de exposición de 1, 3, 7, 14 y 28 días:

4.6.1 Expresión del gen *BAX* en hipotálamo

Cuando se evaluó la expresión del gen *BAX* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 1 (1A1) en un 94%, (1A2) en un 110%, el día 3 (3A2) en un 103%, el día 7 (7A1) en un 83%, (7A2) en un 81%, el día 14 (14A2) en un 124% y el día 28 (28A1) en un 77%, (28A2) en un 88% de exposición (Figura 45).

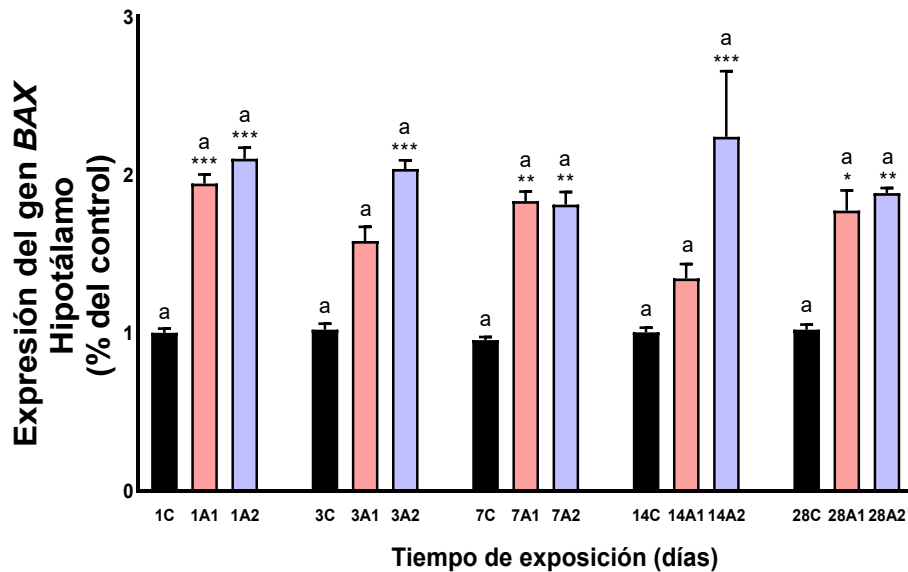


Figura 45. Expresión molecular de *BAX* en hipotálamo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$. El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.6.2 Expresión del gen *BAX* en corteza frontal

Cuando se evaluó la expresión del gen *BAX* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en los días de exposición 1 (1A1) en un 123%, (1A2) en un 119%, el día 3 (3A2) en un 39%, el día 7 (7A1) en un 76%, (7A2) en un 78%, el día 14 (14A2) en un 33% y el día 28 (28A1) en un 66%, (28A2) en un 53%. Sin embargo, cuando se evaluó la expresión génica de *BAX* por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró una disminución significativa

en los días de exposición 3 (3A1, 3A2), 7 (7A1, 7A2), 14 (14A1, 14A2) y 28 (28A1, 28A2) (Figura 46).

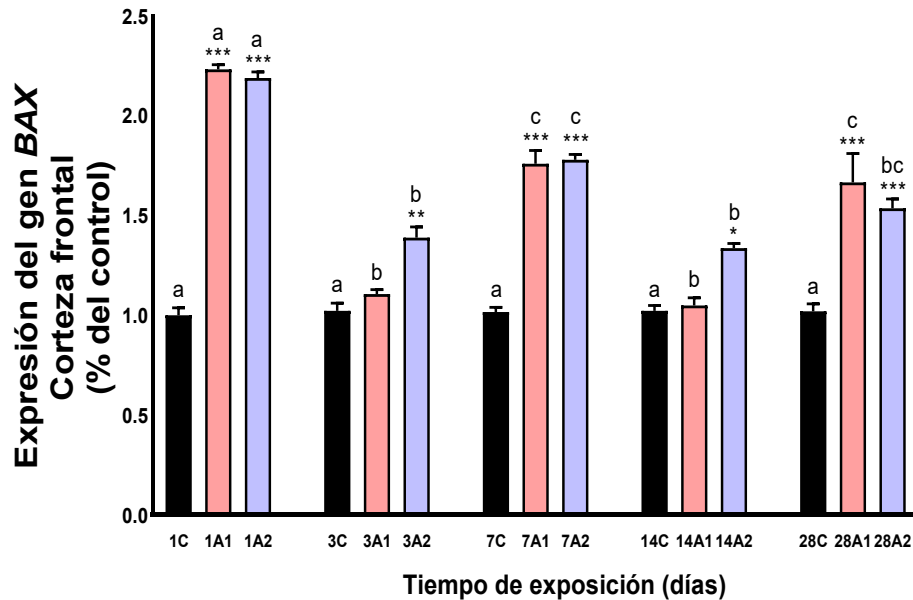


Figura 46. Expresión molecular de *BAX* en corteza frontal de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b,c} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.6.3 Expresión del gen *BAX* en hipocampo

Cuando se evaluó la expresión del gen *BAX* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en los días de exposición 1 (1A1) en un 90%, (1A2) en un 68%, el día 3 (3A1) en un 34%, (3A2) en un 48%, el día 7 (7A1) en un 36%, (7A2) en un 47%, el día 14 (14A1) en un 85%, (14A2) en un 73% y el día 28 (28A1) en un 91%, (28A2) en un 75%; mientras que, cuando se evaluó la

expresión génica de *BAX* por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró una disminución significativa en el día 3 (3A1, 3A2) y en el día 7 (7A1, 7A2) de exposición (Figura 47).

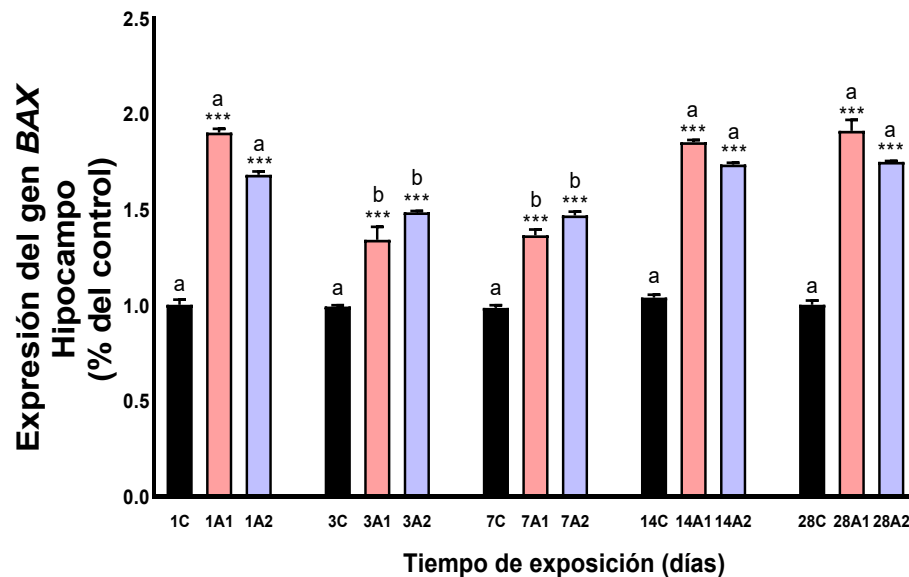


Figura 47. Expresión molecular de *BAX* en hipocampo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.6.4 Expresión del gen *BAX* en cuerpo estriado

Cuando se evaluó la expresión del gen *BAX* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en los días de exposición 1 (1A1) en un 132%, (1A2) en un 99%, el día 3 (3A1) en un 94%, (3A2) en un 96%, el día 7 (7A1) en un 196%, (7A2) en un 192%, el día 14 (14A1) en un 150%, (14A2) en un 176% y el día 28 (28A1) en un 236%, (28A2) en un 193%. Asimismo, cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se

encontró un aumento significativo en el día de exposición 7 (7A1, 7A2), 14 (14A2) y 28 (28A1, 28A2), y una disminución significativa en el día 3 (3A1) (Figura 48).

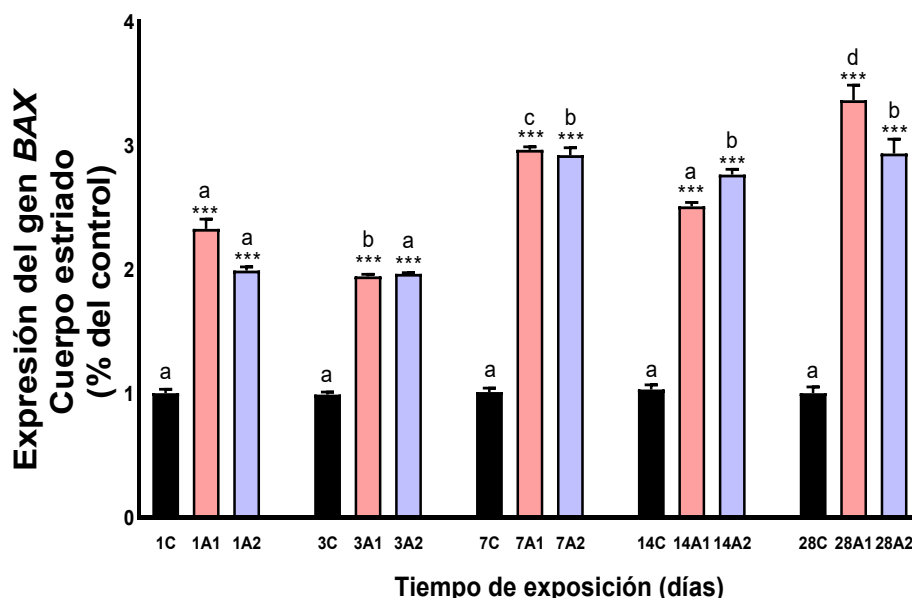


Figura 48. Expresión molecular de *BAX* en cuerpo estriado de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (a,b,c,d $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.6.5 Expresión del gen *BCL2* en hipotálamo

Cuando se evaluó la expresión del gen *BCL2* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó una disminución significativa en los días de exposición 1 (1A2) en un 34%, el día 3 (3A1) en un 52%, (3A2) en un 57%, el día 7 (7A1) en un 41%, (7A2) en un 43%, el día 14 (14A1) en un 45%, (14A2) en un 47% y el día 28 (28A1) en un 56%, (28A2) en un 60%). Asimismo, cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró

una disminución significativa en los días de exposición 3 (3A1), 7 (7A1), 14 (14A1) y 28 (28A1) (Figura 49).

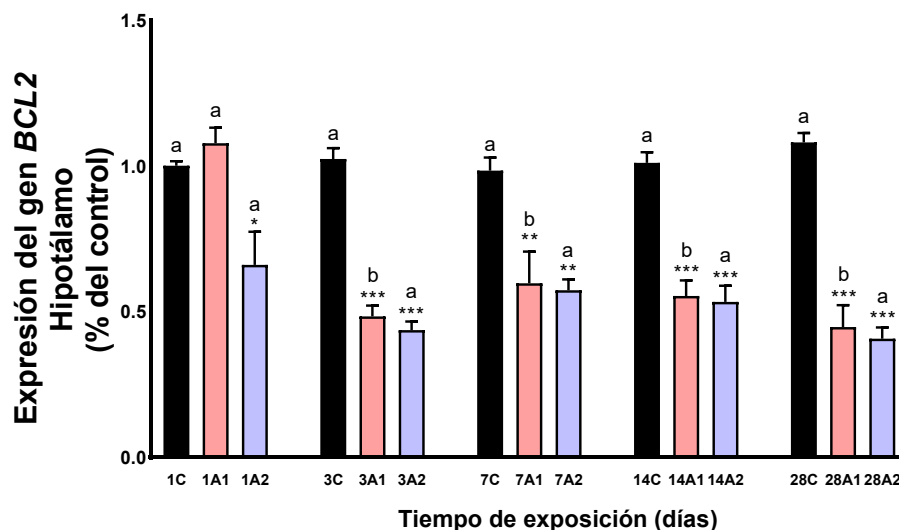


Figura 49. Expresión molecular de *BCL2* en hipotálamo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.6.6 Expresión del gen *BCL2* en corteza frontal

Cuando se evaluó la expresión del gen *BCL2* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó una disminución significativa en los días de exposición 3 (3A2) en un 70%, el día 7 (7A2) en un 27% y el día 28 (28A2) en un 62%. Asimismo, cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró una disminución significativa en los días de exposición 3 (3A2) el día 7 (7A1, 7A2) y en el día 28 (28A2) (Figura 50).

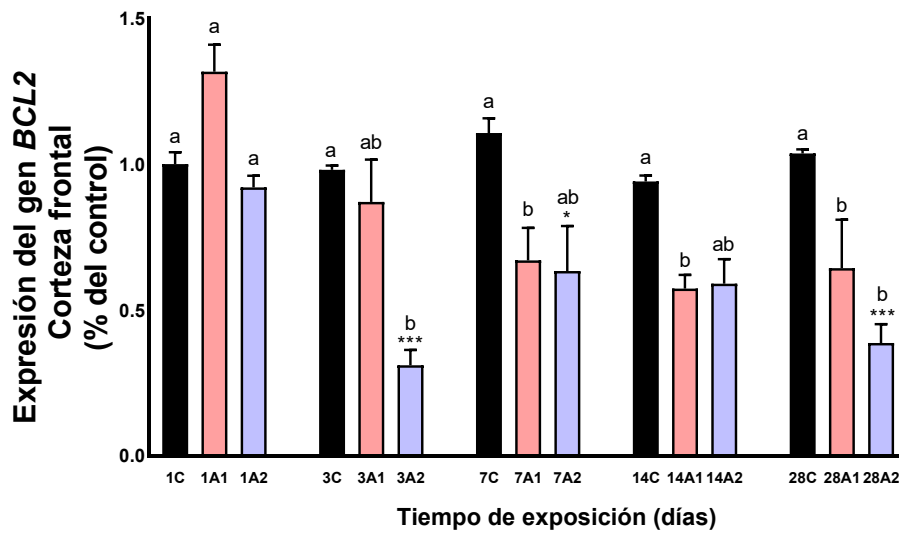


Figura 50. Expresión molecular de *BCL2* en corteza frontal de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como * $p \leq 0.05$, *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.6.7 Expresión del gen *BCL2* en hipocampo

Cuando se evaluó la expresión del gen *BCL2* por efecto de la altitud y el tiempo de exposición a la altura no se encontró diferencias estadísticas significativas (Figura 51).

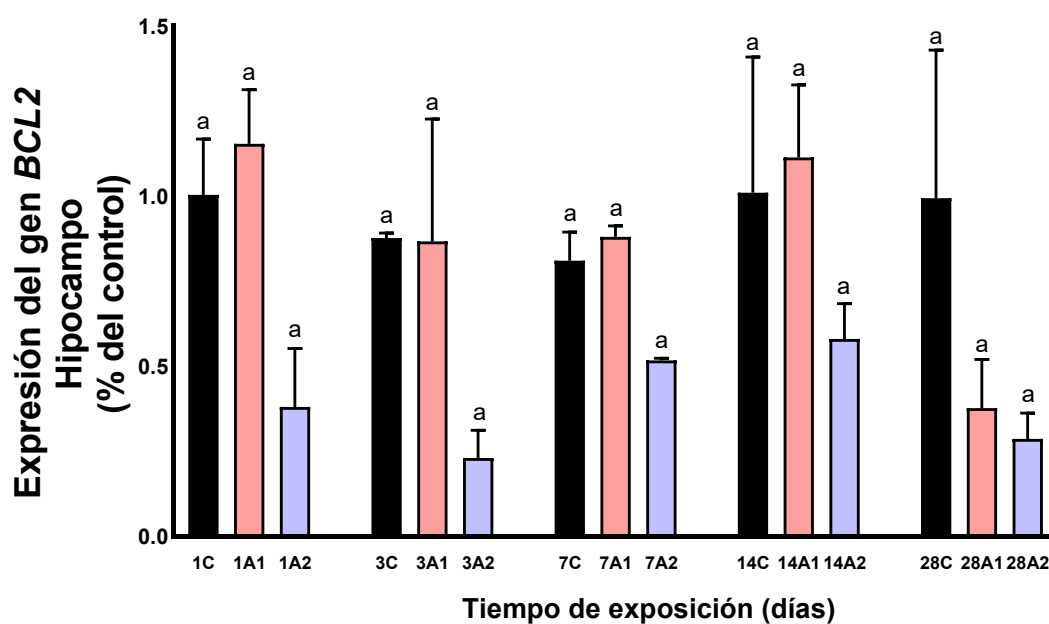


Figura 51. Expresión molecular de *BCL2* en hipocampo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. A1 (barra roja) y A2 (barra azul).

4.6.8 Expresión del gen *BCL2* en cuerpo estriado

Cuando se evaluó la expresión del gen *BCL2* por efecto de la altitud y el tiempo de exposición a la altura no se encontró diferencias estadísticas significativas (Figura 52).

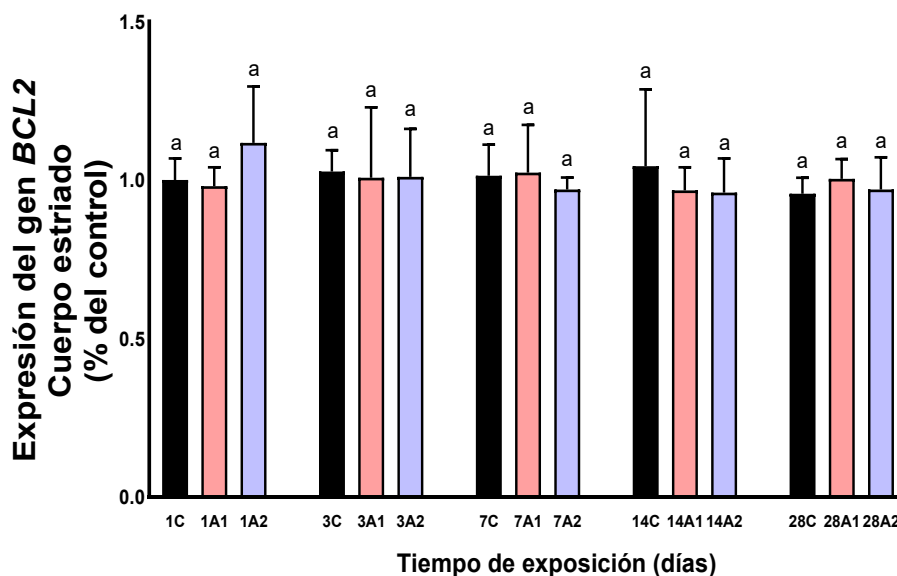


Figura 52. Expresión molecular de *BCL2* en cuerpo estriado de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. A1 (barra roja) y A2 (barra azul).

4.6.9 Expresión del gen *CASP3* en hipotálamo

Cuando se evaluó la expresión del gen *CASP3* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 7 (7A2, 69%) y el día 14 (14A1, 55%; 14A2, 149%) de exposición; mientras que cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró un aumento significativo en el día 7 (7A2) y en el día 14 (14A2) de exposición (Figura 53).

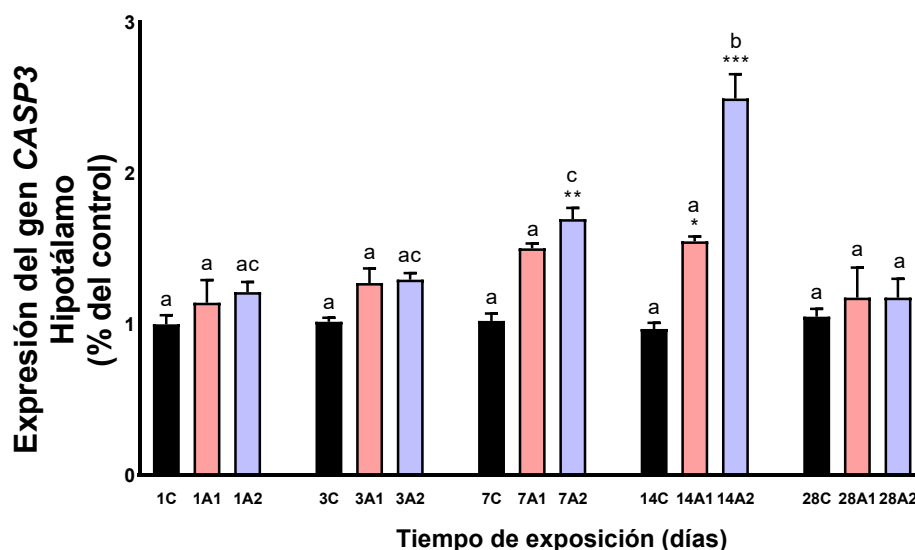


Figura 53. Expresión molecular de *CASP3* en hipotálamo de ratas expuestas a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como $**p \leq 0.01$, $***p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras ($a,b,c p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.6.10 Expresión del gen *CASP3* en corteza frontal:

Cuando se evaluó la expresión del gen *CASP3* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 1 (1A1, 39%; 1A2, 34%), el día 7 (7A1, 47%; 7A2, 39%) y el día 14 (14A2, 34%) de exposición; mientras que cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró una disminución significativa en el día 14 (14A1) y en el día 28 (28A1, 28A2) de exposición (Figura 54).

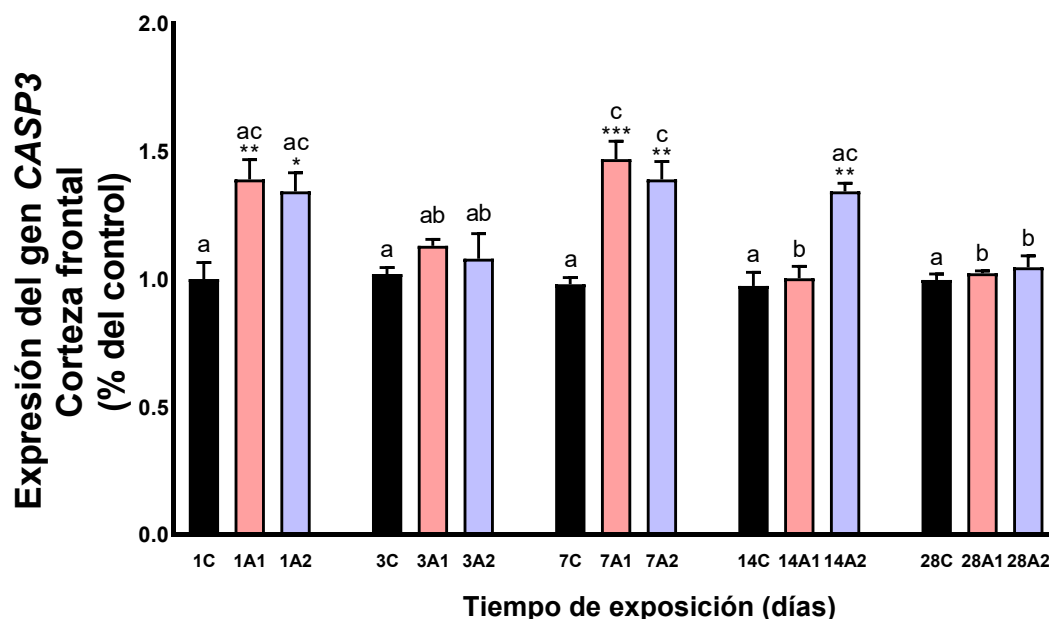


Figura 54. Expresión molecular de *CASP3* en corteza frontal de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como $**p \leq 0.01$, $***p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras ($a,b,c p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.6.11 Expresión del gen *CASP3* en hipocampo:

Cuando se evaluó la expresión del gen *CASP3* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 1 (1A1, 103%; 1A2, 75%), el día 3 (3A2, 67%), el día 7 (7A1, 74%; 7A2, 71%), el día 14 (14A1, 116%; 14A2, 72%) y el día 28 (28A1, 62%; 28A2, 73%) de exposición; mientras que cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró una disminución significativa en el día 3 (3A1), el día 7 (7A1) y en el día 28 (28A1) de exposición (Figura 55).

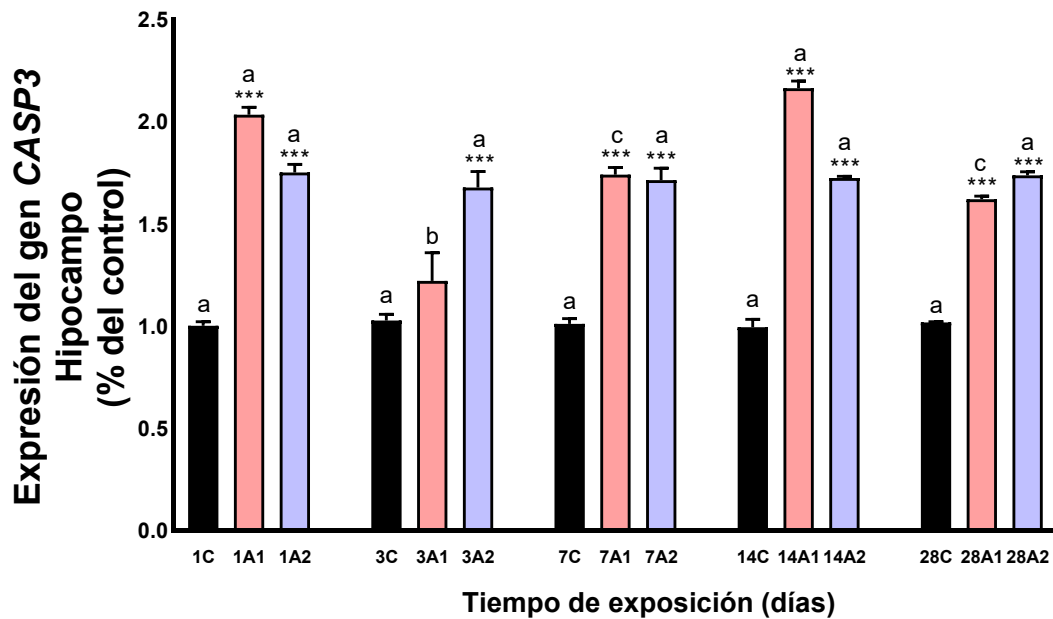


Figura 55. Expresión molecular de *CASP3* en hipocampo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b,c} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.6.12 Expresión del gen *CASP3* en cuerpo estriado:

Cuando se evaluó la expresión del gen *CASP3* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 7 (7A2, 188%) y el día 14 (14A2, 168%) de exposición; mientras que cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró un aumento significativo en el día 7 (7A2) y en el día 14 (14A2) de exposición (Figura 56).

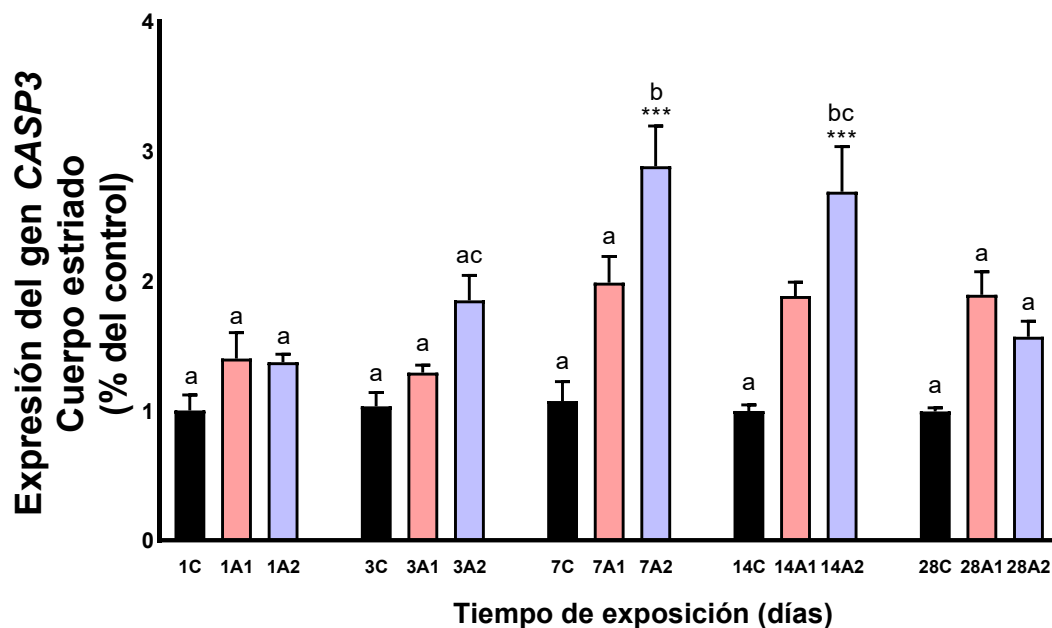


Figura 56. Expresión molecular de *CASP3* en cuerpo estriado de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b,c} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.6.13 Expresión del gen *BNIP3* en hipotálamo:

Cuando se evaluó la expresión del gen *BNIP3* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 1 (1A1, 75%; 1A2, 72%), el día 3 (3A1, 96%; 3A2, 115%), el día 7 (7A1, 75%; 7A2, 65%) y el día 14 (14A2, 75%) de exposición; mientras que cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró una disminución significativa en el día 28 (28A1, 28A2) de exposición (Figura 57).

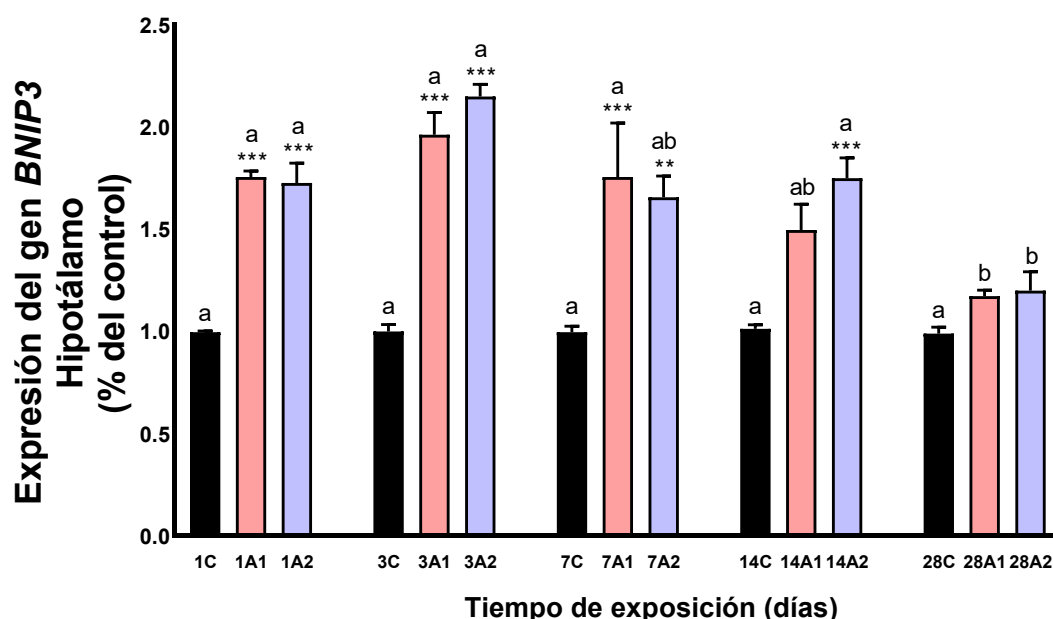


Figura 57. Expresión molecular de *BNIP3* en hipotálamo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.6.14 Expresión del gen *BNIP3* en corteza frontal:

Cuando se evaluó la expresión del gen *BNIP3* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 1 (1A1, 123%; 1A2, 141%), el día 3 (3A2, 123%), y el día 7 (7A1, 172%; 7A2, 74%) de exposición; mientras que cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró un aumento significativo en el día 7 (7A1) y una

disminución significativa en el día 14 (14A1, 14A2) y el día 28 (28A1, 28A2) de exposición (Figura 58).

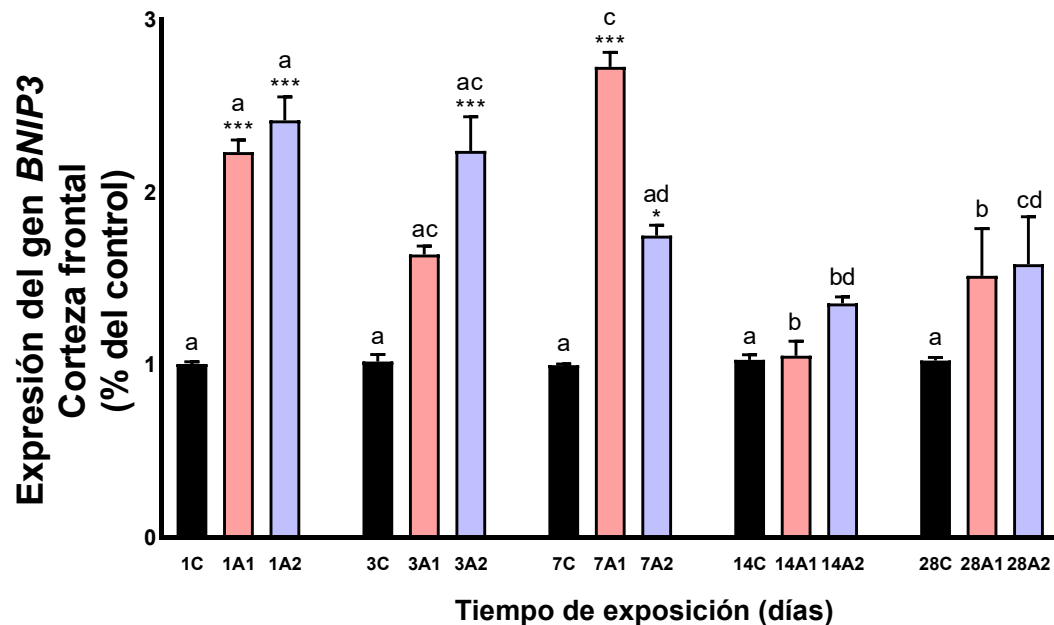


Figura 58. Expresión molecular de *BNIP3* en corteza frontal de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como * $p \leq 0.05$, *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b,c,d} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.6.15 Expresión del gen *BNIP3* en hipocampo:

Cuando se evaluó la expresión del gen *BNIP3* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 3 (3A2, 68%), el día 7 (7A1, 101%; 7A2, 196%) y el día 14 (14A1, 65%; 14A2, 61%) de exposición; mientras que cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a

la hipoxia ambiental, se encontró un aumento significativo en el día 3 (3A2), el día 7 (7A1, 7A2) y el día 14 (14A1, 14A2) de exposición (Figura 59).

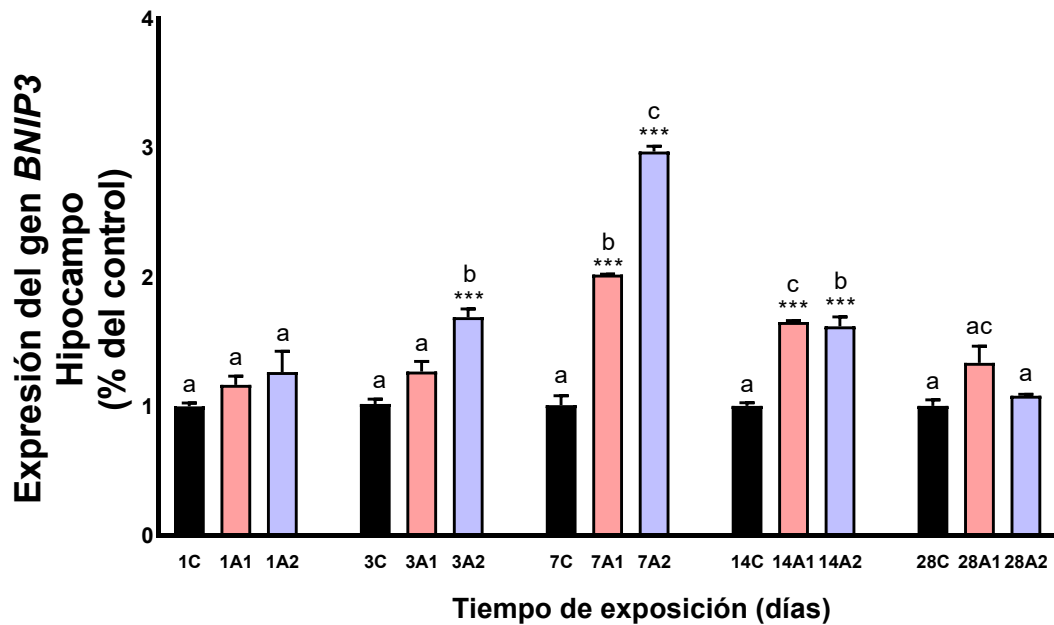


Figura 59. Expresión molecular de *BNIP3* en hipocampo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.)) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b,c} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.6.16 Expresión del gen *BNIP3* en cuerpo estriado:

Cuando se evaluó la expresión del gen *BNIP3* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 1 (1A1, 70%; 1A2, 85%), el día 3 (3A1, 82%; 3A2, 79%), el día 7 (7A1, 95%; 7A2, 126%), el día 14 (14A2, 76%) y el día 28 (28A1, 70%; 28A2, 58%) de exposición; mientras que cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental,

se encontró un aumento significativo en el día 7 (7A2) y una disminución significativa el día 14 (14A1) de exposición (Figura 60).

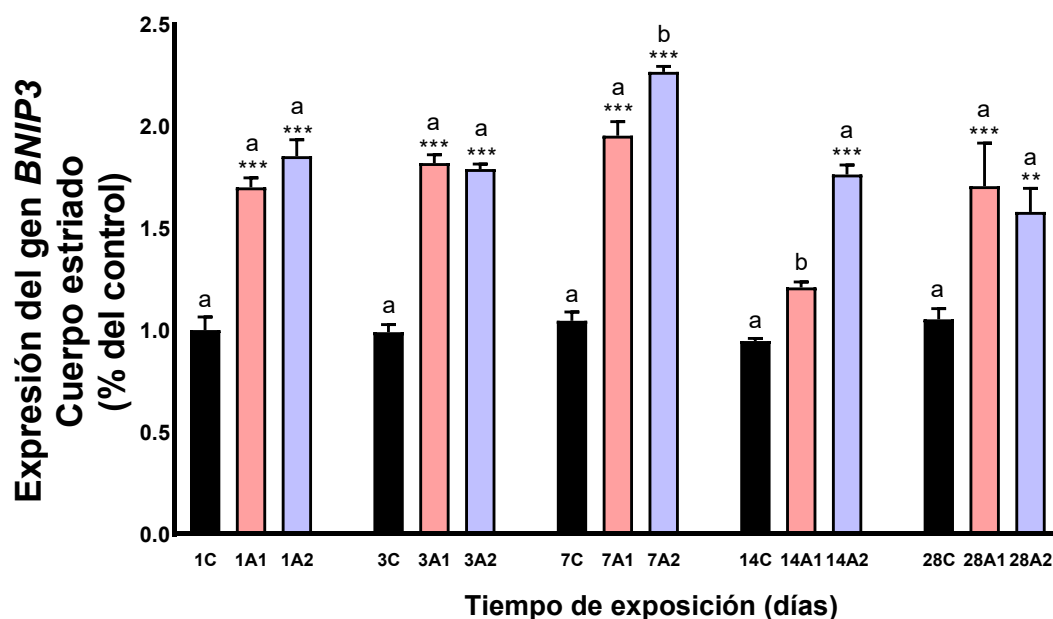


Figura 60. Expresión molecular de *BNIP3* en cuerpo estriado de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.6.17 Expresión del gen *AKT1* en hipotálamo:

Cuando se evaluó la expresión del gen *AKT1* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 1 (1A2, 78%), el día 7 (7A2, 68%), el día 14 (14A1, 76%; 14A2, 78%) y el día 28 (28A1, 70%) de exposición (Figura 61).

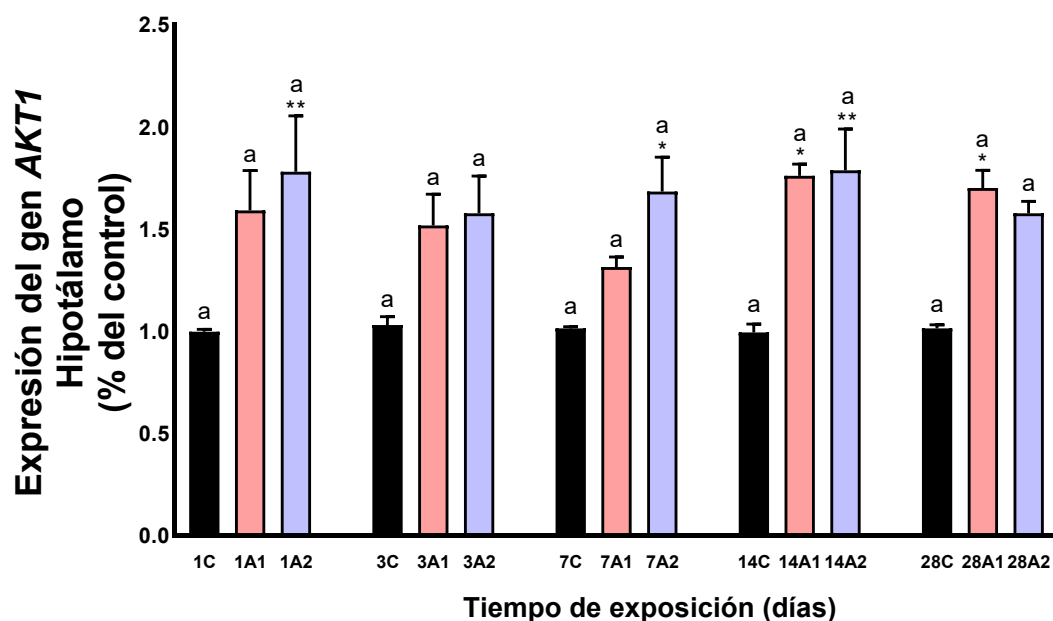


Figura 61. Expresión molecular de *AKT1* en hipotálamo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$. El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.6.18 Expresión del gen *AKT1* en corteza frontal:

Cuando se evaluó la expresión del gen *AKT1* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 7 (7A1, 96%) de exposición (Figura 62).

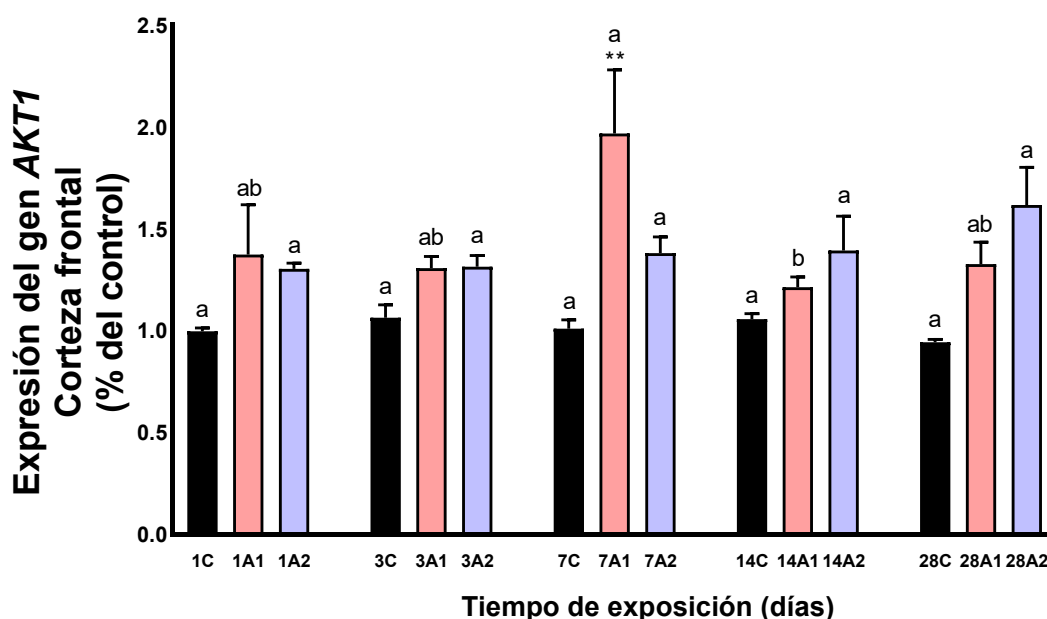


Figura 62. Expresión molecular de *AKT1* en corteza frontal de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como $^{**}p \leq 0.01$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras ($^{a,b}p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.6.19 Expresión del gen *AKT1* en hipocampo:

Cuando se evaluó la expresión del gen *AKT1* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 14 (14A1, 120%; 14A2, 86%) y el día 28 (28A1, 139%; 28A2, 114%) de exposición; mientras que cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró un aumento significativo en el día 7 (7A2), en el día 14 (14A1, 14A2) y el día 28 (28A1, 28A2) de exposición (Figura 63).

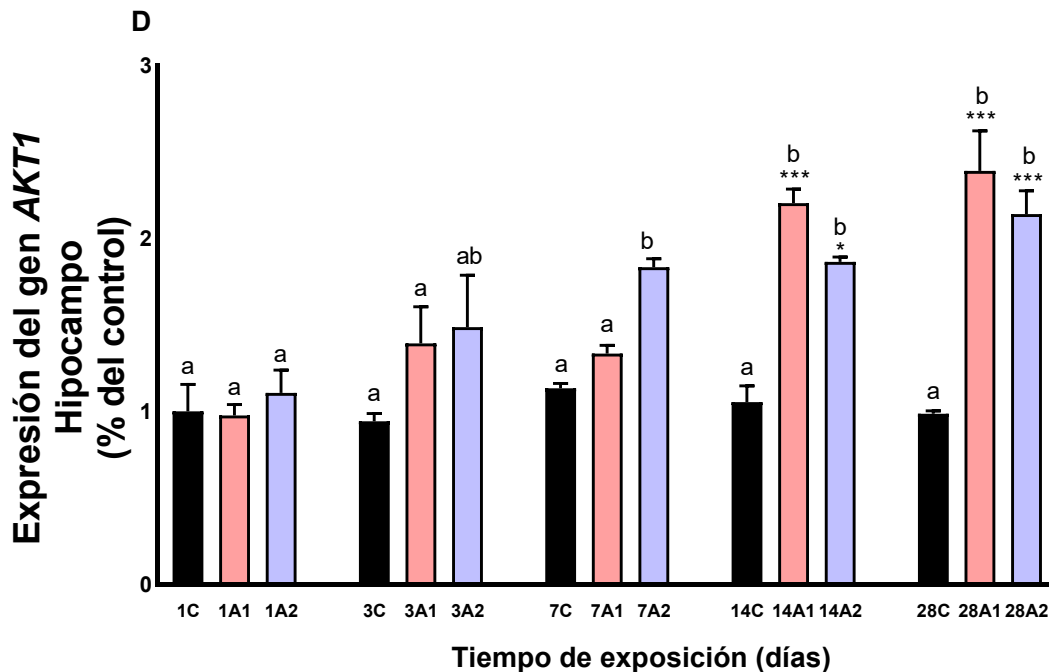


Figura 63. Expresión molecular de *AKT1* en hipocampo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.6.20 Expresión del gen *AKT1* en cuerpo estriado:

Cuando se evaluó la expresión del gen *AKT1* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 1 (1A2, 63%), en el día 3 (3A2, 110%), en el día 7 (7A1, 72%; 7A2, 101%), el día 14 (14A1, 71%; 14A2, 109%) y el día 28 (28A1, 260%; 28A2, 139%) de exposición; mientras que cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró un aumento significativo en el día 3 (3A2) y el día 28 (28A1, 28A2) de exposición (Figura 64).

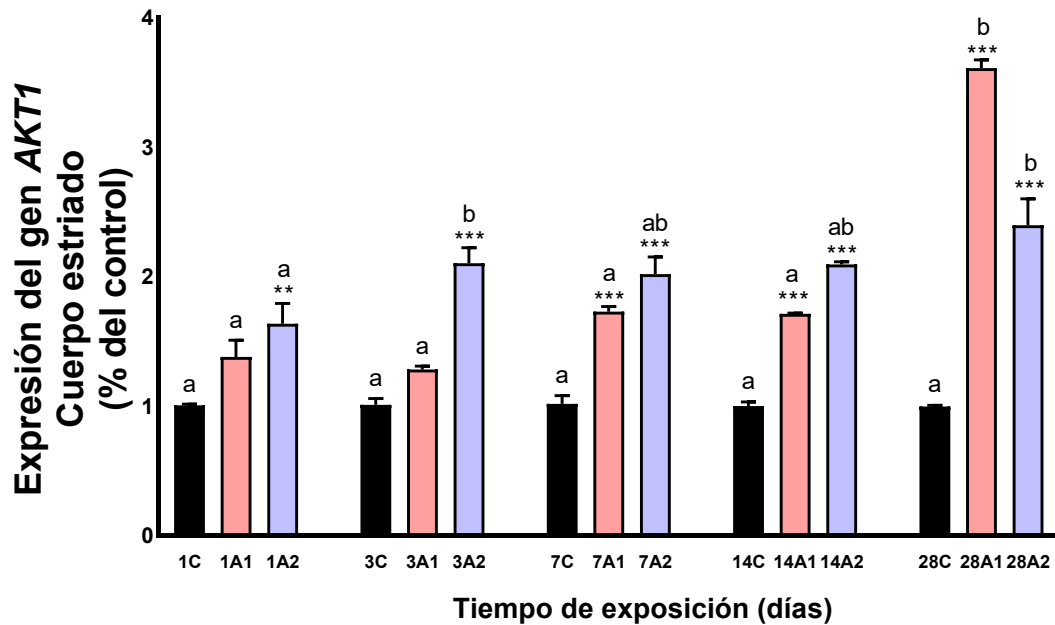


Figura 64. Expresión molecular de *AKT1* en cuerpo estriado de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.6.21 Expresión del gen *APAF-1* en hipotálamo:

Cuando se evaluó la expresión del gen *APAF-1* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 14 (14A2, 99%) de exposición; mientras que cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró un aumento significativo en el día 14 (14A2) de exposición (Figura 65).

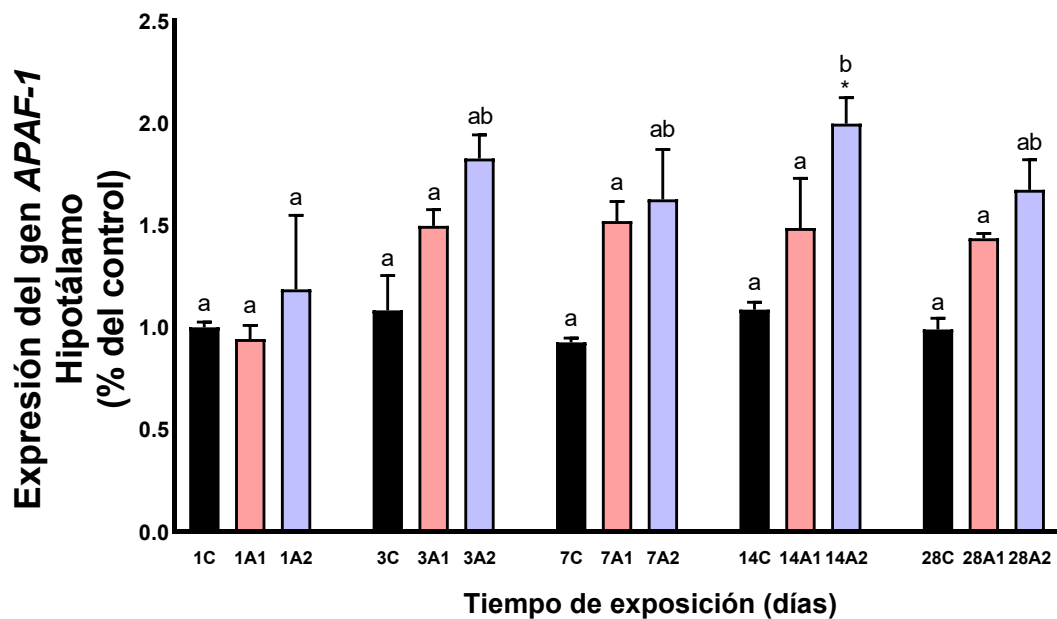


Figura 65. Expresión molecular de *APAF-1* en hipotálamo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como * $p \leq 0.05$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras ($^{a,b}p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.6.22 Expresión del gen *APAF-1* en corteza frontal:

Cuando se evaluó la expresión del gen *APAF-1* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 1 (1A2, 31%), en el día 3 (3A2, 74%) y el día 14 (14A1, 28%; 14A2, 64%) de exposición; mientras que cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró un aumento significativo en el día 3 (3A2), el día 7 (7A1) y el día 14 (14A2) de exposición (Figura 66).

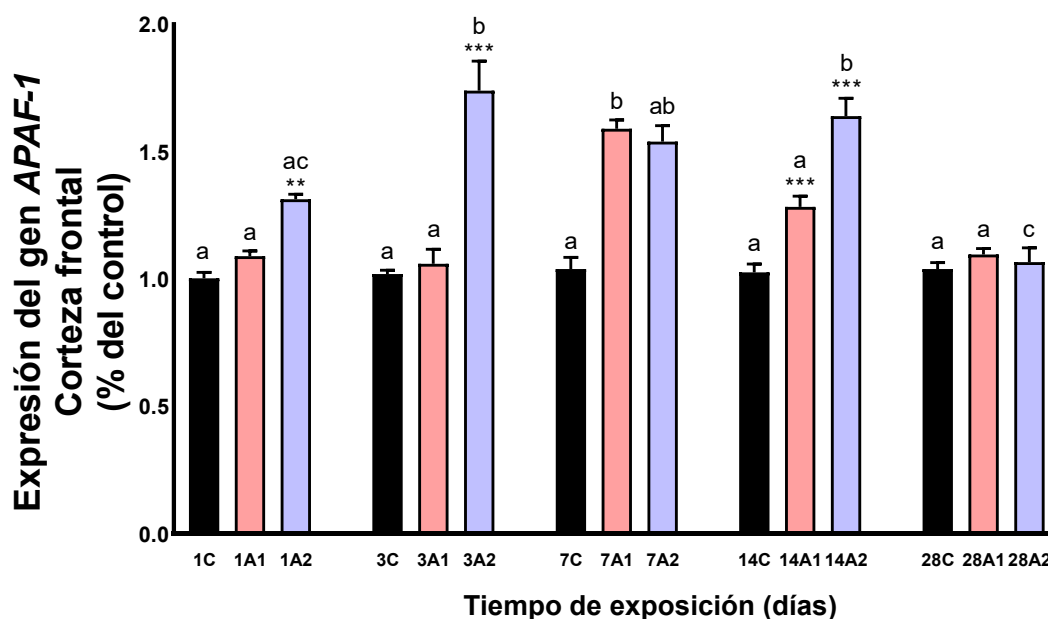


Figura 66. Expresión molecular de *APAF-1* en corteza frontal de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como $**p \leq 0.01$, $***p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras ($a, b, c, p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.6.23 Expresión del gen *APAF-1* en hipocampo:

Cuando se evaluó la expresión del gen *APAF-1* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 1 (1A1, 81%; 1A2, 59%), en el día 3 (3A1, 69%; 3A2, 69%), el día 7 (7A1, 57%; 7A2, 60%), el día 14 (14A1, 68%; 14A2, 120%) y el día 28 (28A1, 121%; 28A2, 107%) de exposición; mientras que cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró un aumento significativo en el día 14 (14A2) y día 28 (28A2) de exposición (Figura 67).

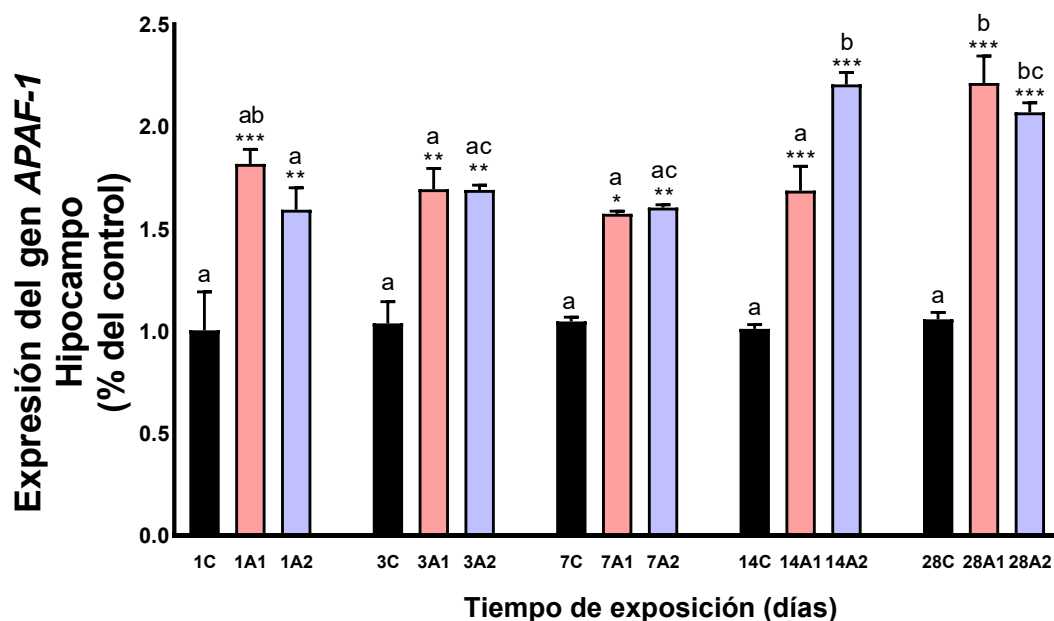


Figura 67. Expresión molecular de *APAF-1* en hipocampo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b,c} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.6.24 Expresión del gen *APAF-1* en cuerpo estriado:

Cuando se evaluó la expresión del gen *APAF-1* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 3 (3A1, 157%; 3A2, 134%), el día 7 (7A1, 171%; 7A2, 115%) y el día 14 (14A1, 132%; 14A2, 214%) de exposición; mientras que cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró un aumento significativo en el día 3 (3A1), el día 7 (7A1) y día 14 (14A2) de exposición (Figura 68).

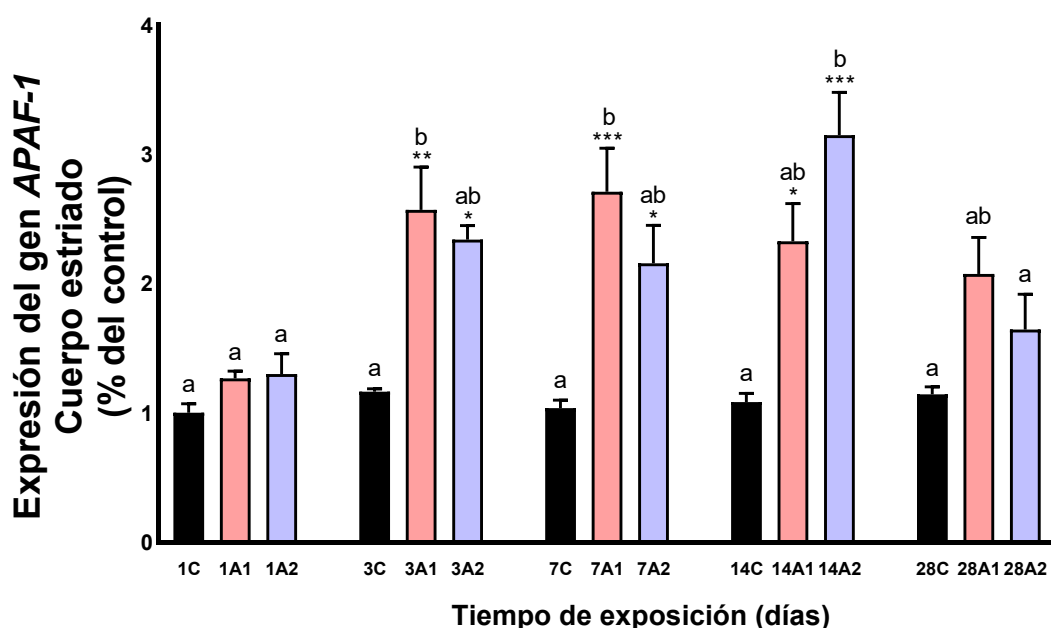


Figura 68. Expresión molecular de *APAF-1* en cuerpo estriado de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.7. Evaluación molecular de genes relacionados a inflamación en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental

Se obtuvieron los siguientes resultados respecto a la expresión de los genes relacionados a inflamación en las regiones cerebrales del hipotálamo, corteza frontal, hipocampo y cuerpo estriado de ratas que fueron expuestas al nivel del mar (C) y a altitudes de 3151 m. s. n. m. (A1) y 4214 m. s. n. m. (A2) durante intervalos de exposición de 1, 3, 7, 14 y 28 días:

4.7.1 Expresión del gen *NF-kB* en hipotálamo:

Cuando se evaluó la expresión del gen *NF-kB* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 7 (7A1, 257%) de exposición; mientras que cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró una disminución significativa en el día 14 (14A1) de exposición (Figura 69).

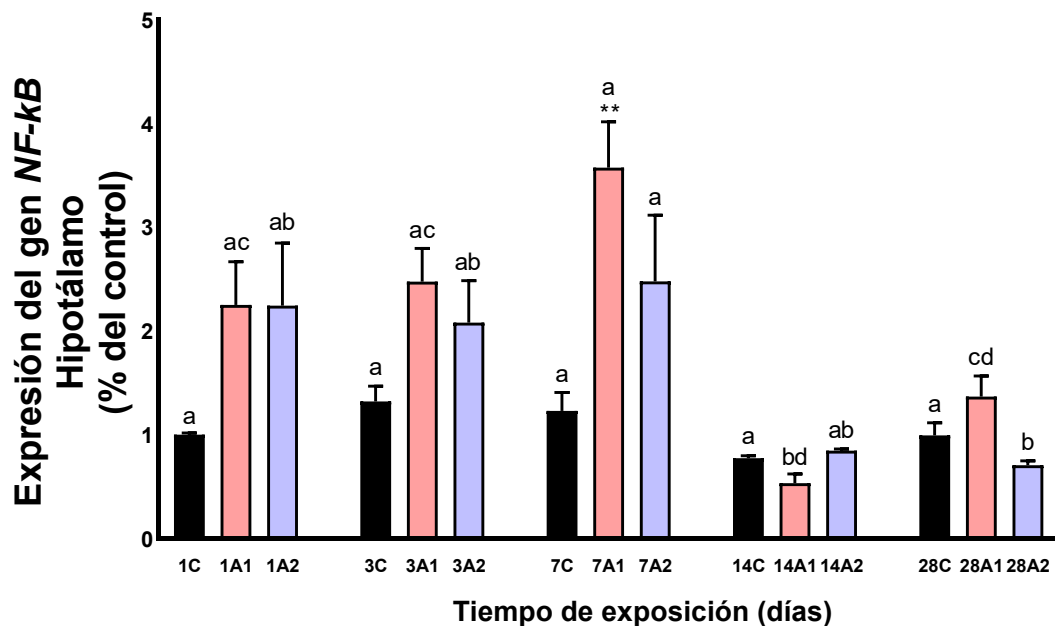


Figura 69. Expresión molecular de *NF-kB* en hipotálamo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como $p \leq 0.01$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras ($p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.7.2 Expresión del gen *NF-kB* en corteza frontal:

Cuando se evaluó la expresión del gen *NF-kB* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 1 (1A1, 156%;

1A2, 241%), en el día 3 (3A1, 57%; 3A2, 149%), el día 7 (7A1, 174%; 7A2, 190%) y el día 28 (28A1, 84%; 28A2, 92%) de exposición; mientras que cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró una disminución significativa en el día 3 (3A1, 3A2), el día 7 (7A2), el día 14 (14A1, 14A2) y día 28 (28A1, 28A2) de exposición (Figura 70).

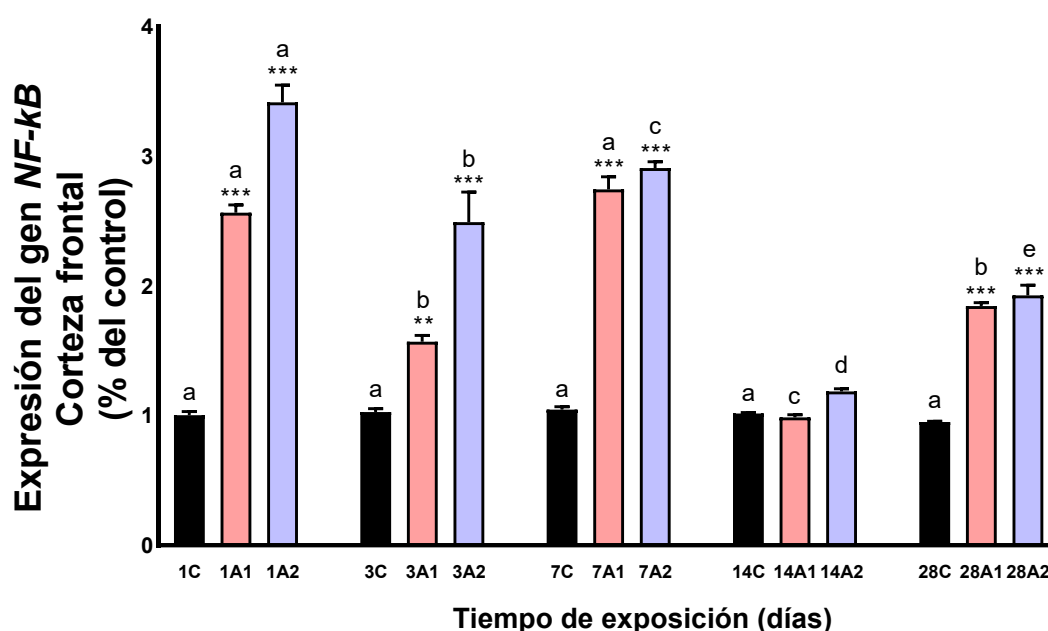


Figura 70. Expresión molecular de *NF-kB* en corteza frontal de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b,c,d,e} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.7.3 Expresión del gen *NF-kB* en hipocampo:

Cuando se evaluó la expresión del gen *NF-kB* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 1 (1A1, 98%; 1A2, 69%), en el día 3 (3A1, 117%; 3A2, 135%), el día 7 (7A1, 183%; 7A2, 193%), el día 14 (14A2, 63%) y el día 28 (28A1, 120%; 28A2, 66%) de exposición; mientras que

cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró un aumento significativo en el día 3 (3A2) y el día 7 (7A1,7A2); y una disminución significativa el día 14 (14A1) de exposición (Figura 71).

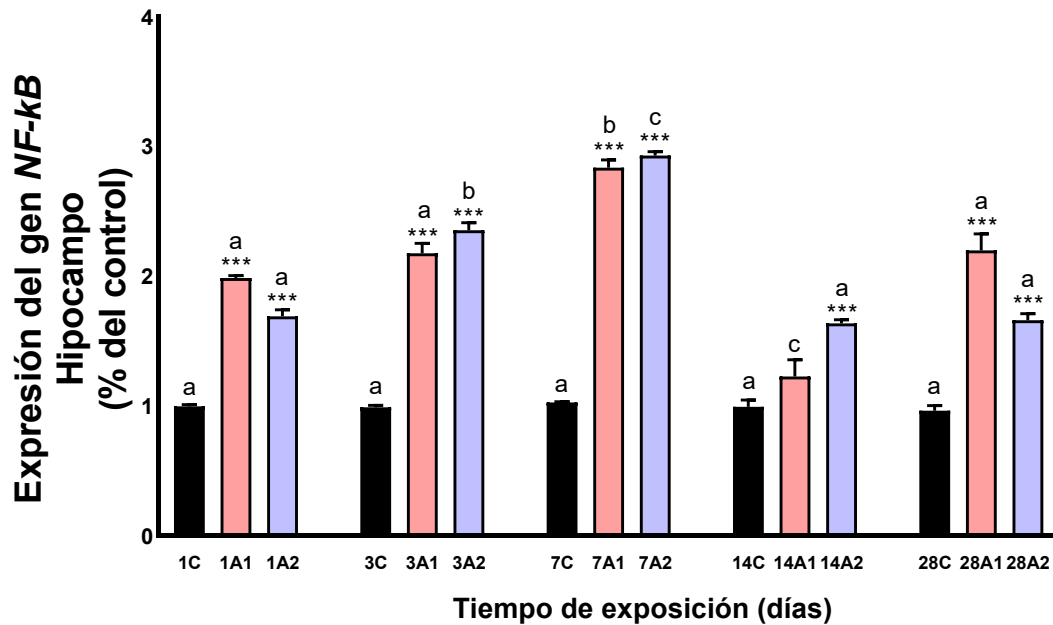


Figura 71. Expresión molecular de *NF-kB* en hipocampo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b,c} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.7.4 Expresión del gen *NF-kB* en cuerpo estriado:

Cuando se evaluó la expresión del gen *NF-kB* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 1 (1A1, 197%; 1A2, 215%), en el día 3 (3A1, 174%; 3A2, 255%), el día 7 (7A1, 207%; 7A2, 209%), el día 14 (14A1, 199%; 14A2, 228%) y el día 28 (28A1, 295%; 28A2, 205%) de exposición; mientras que cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a

la hipoxia ambiental, se encontró un aumento significativo en el día 28 (28A1) de exposición (Figura 72).

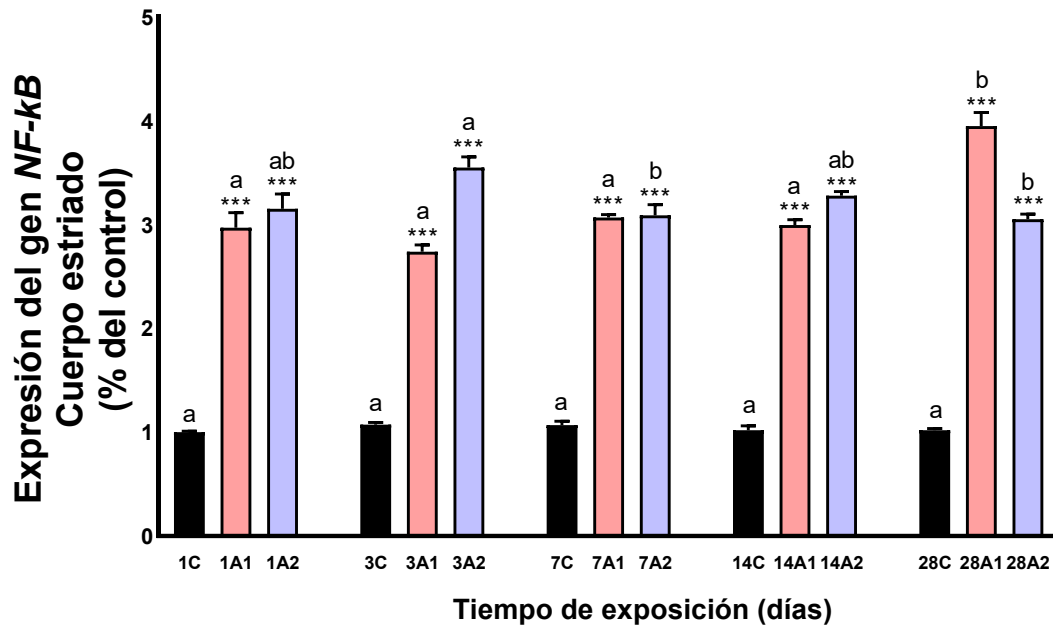


Figura 72. Expresión molecular de *NF-kB* en cuerpo estriado de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.7.5 Expresión del gen *TNF- α* en hipotálamo:

Cuando se evaluó la expresión del gen *TNF- α* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 3 (3A1, 102%; 3A2, 161%), el día 7 (7A1, 108%; 7A2, 156%), el día 14 (14A1, 79%; 14A2, 157%) y el día 28 (28A2, 95%) de exposición; mientras que cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró un aumento significativo en el día 3 (3A1, 3A2), el día 7 (7A1, 7A2) y el día 14 (14A2) de exposición (Figura 73).

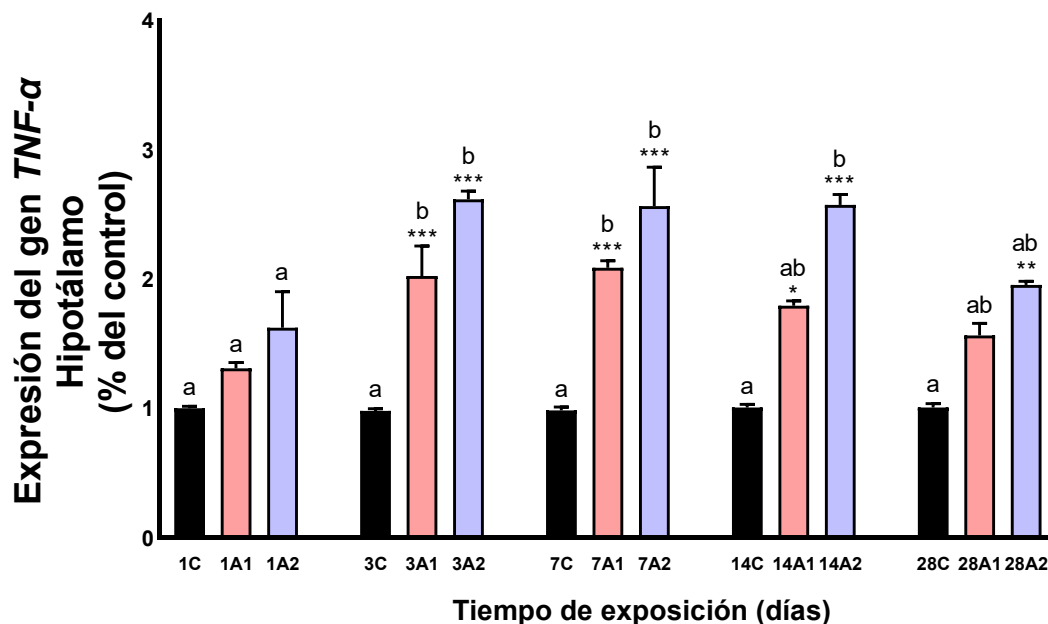


Figura 73. Expresión molecular de *TNF-α* en hipotálamo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.7.6 Expresión del gen *TNF-α* en corteza frontal:

Cuando se evaluó la expresión del gen *TNF-α* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 1 (1A1, 26%; 1A2, 25%) el día 3 (3A2, 82%), el día 7 (7A1, 71%; 7A2, 69%), el día 14 (14A1, 61%; 14A2, 90%) y el día 28 (28A1, 63%; 28A2, 77%) de exposición; mientras que cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró un aumento significativo en el día 3 (3A2), el día 7 (7A1, 7A2), el día 14 (14A1, 14A2) y el día 28 (28A1, 28A2) de exposición (Figura 74).

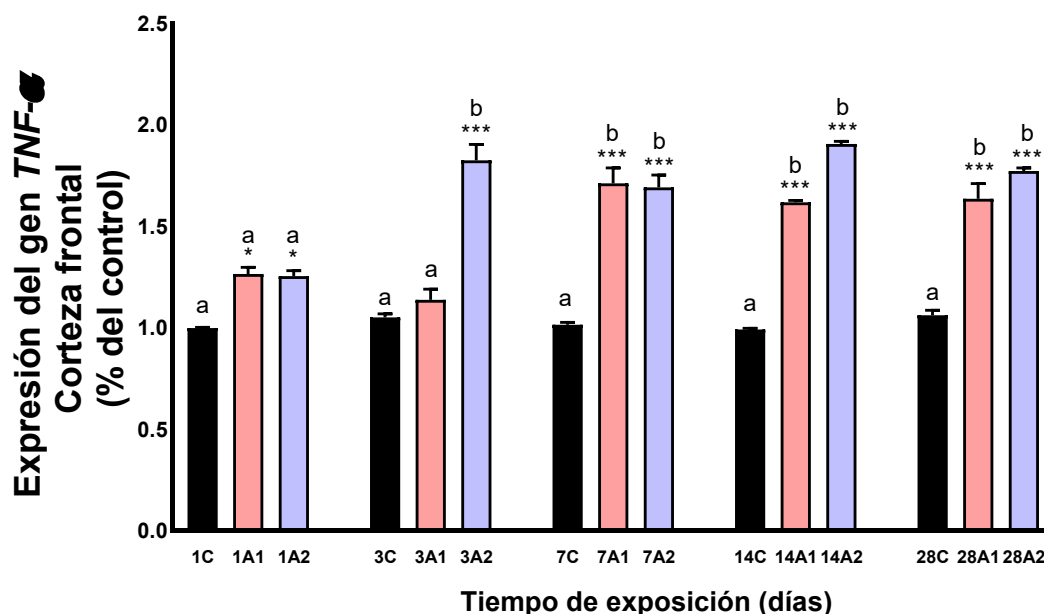


Figura 74. Expresión molecular de *TNF-α* en corteza frontal de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como * $p \leq 0.05$, *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.7.7 Expresión del gen *TNF-α* en hipocampo:

Cuando se evaluó la expresión del gen *TNF-α* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 1 (1A1, 23%; 1A2, 30%) el día 3 (3A1, 87%; 3A2, 81%), el día 7 (7A1, 124%; 7A2, 186%), el día 14 (14A1, 193%; 14A2, 197%) y el día 28 (28A1, 104%; 28A2, 135%) de exposición; mientras que cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró un aumento significativo en el día 3 (3A1, 3A2), el día 7 (7A1, 7A2), el día 14 (14A1, 14A2) y el día 28 (28A1, 28A2) de exposición (Figura 75).

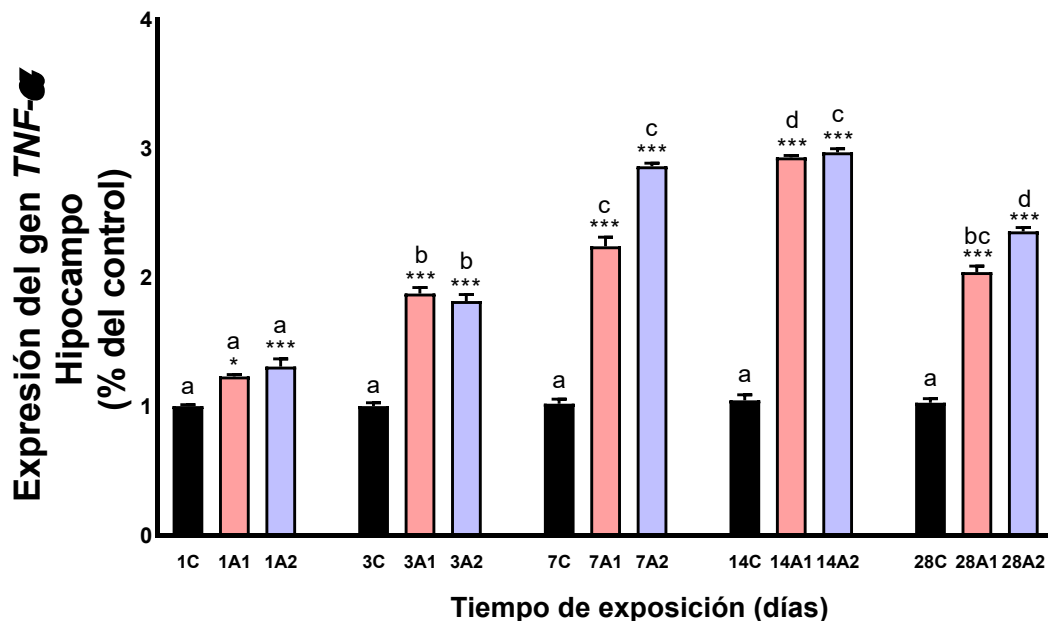


Figura 75. Expresión molecular de *TNF-α* en hipocampo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como * $p \leq 0.05$, *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b,c,d} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.7.8 Expresión del gen *TNF-α* en cuerpo estriado:

Cuando se evaluó la expresión del gen *TNF-α* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 3 (3A1, 67%; 3A2, 108%), el día 7 (7A1, 182%; 7A2, 188%), el día 14 (14A1, 74%; 14A2, 217%) y el día 28 (28A1, 220%; 28A2, 243%) de exposición; mientras que cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró un aumento significativo en el día 3 (3A2), el día 7 (7A1, 7A2), el día 14 (14A1, 14A2) y el día 28 (28A1, 28A2) de exposición (Figura 76).

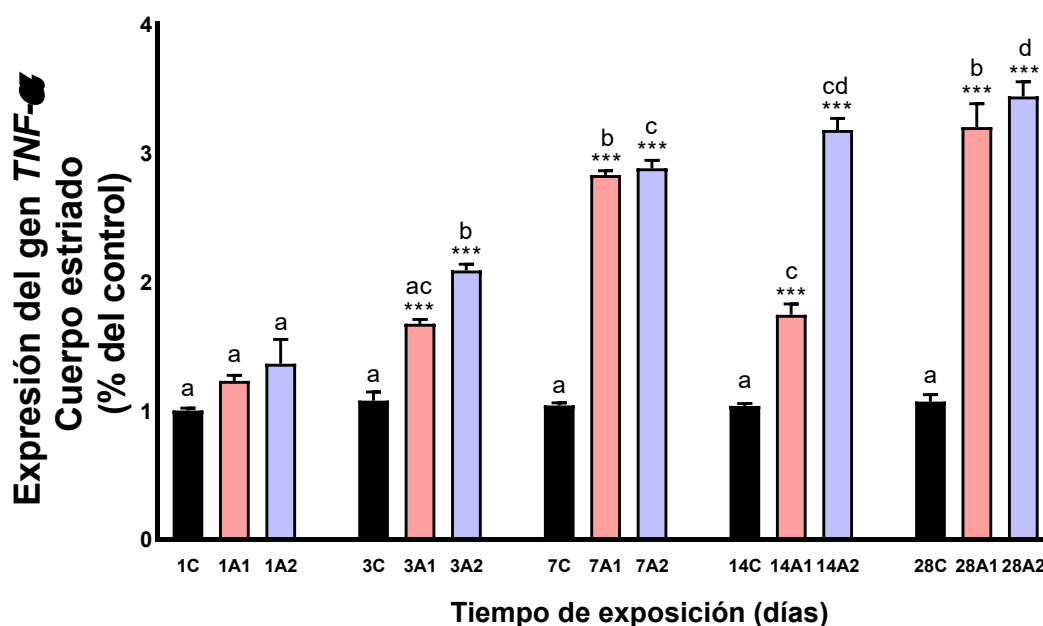


Figura 76. Expresión molecular de *TNF-α* en cuerpo estriado de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b,c,d} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.7.9 Expresión del gen *COX-2* en hipotálamo:

Cuando se evaluó la expresión del gen *COX-2* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 3 (3A1, 154%) y el día 7 (7A1, 130%) de exposición (Figura 77).

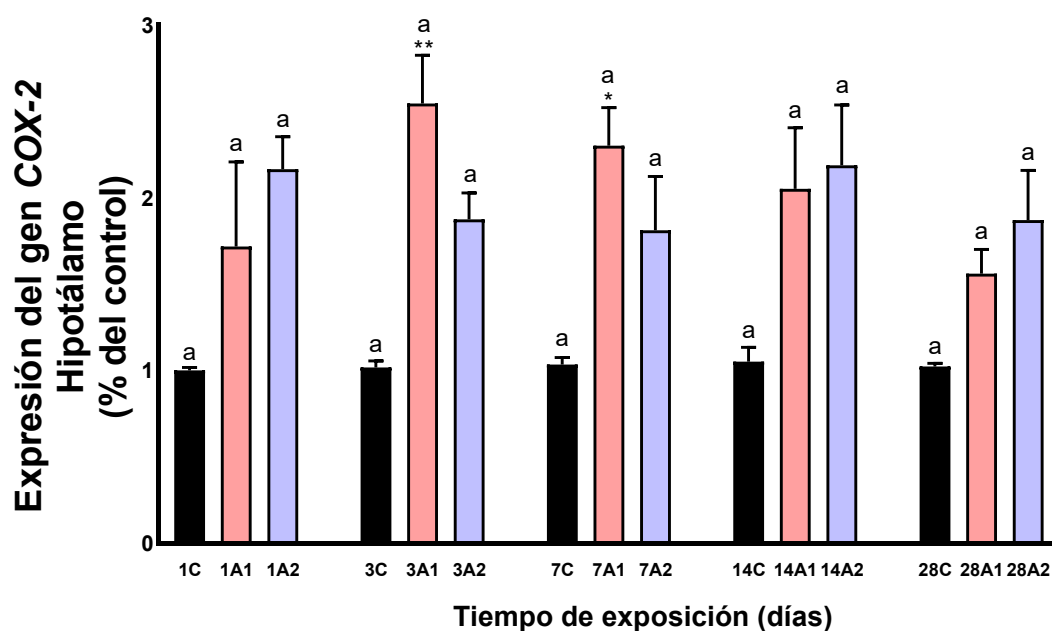


Figura 77. Expresión molecular de *COX-2* en hipotálamo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m. m) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$. El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.7.10 Expresión del gen *COX-2* en corteza frontal:

Cuando se evaluó la expresión del gen *COX-2* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 1 (1A2, 97%) y el día 3 (3A2, 129%) de exposición; mientras que cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró una disminución significativa en el día 7 (7A2) y el día 14 (14A2) de exposición (Figura 78).

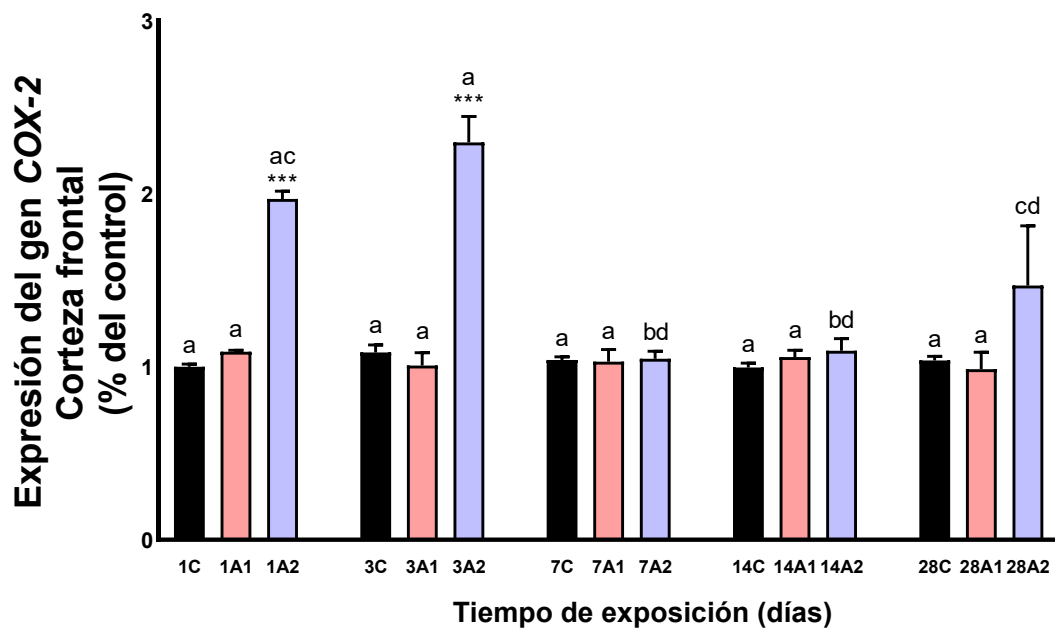


Figura 78. Expresión molecular de *COX-2* en corteza frontal de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras (^{a,b,c,d} $p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.7.11 Expresión del gen *COX-2* en hipocampo:

Cuando se evaluó la expresión del gen *COX-2* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 1 (1A2, 69%), el día 3 (3A2, 98%) y el día 7 (7A2, 69%) de exposición; mientras que cuando se evaluó la expresión génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental, se encontró una disminución significativa en el día 14 (14A2) y el día 28 (28A2) de exposición (Figura 79).

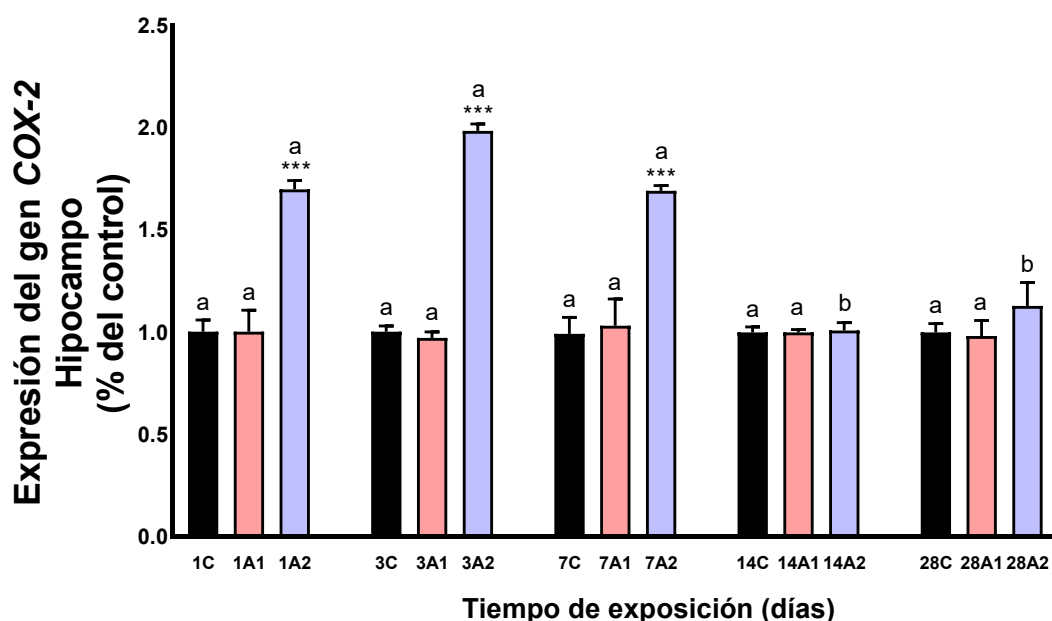


Figura 79. Expresión molecular de *COX-2* en hipocampo de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como *** $p \leq 0.001$. Las diferencias significativas debido al efecto de la duración de la exposición dentro de cada altitud se indican con letras ($^{a,b}p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

4.7.12 Expresión del gen *COX-2* en cuerpo estriado:

Cuando se evaluó la expresión del gen *COX-2* por efecto de la altitud (A1 y A2) frente a nivel de mar (control, C) se observó un aumento significativo en el día 3 (3A2, 188%) de exposición (Figura 80).

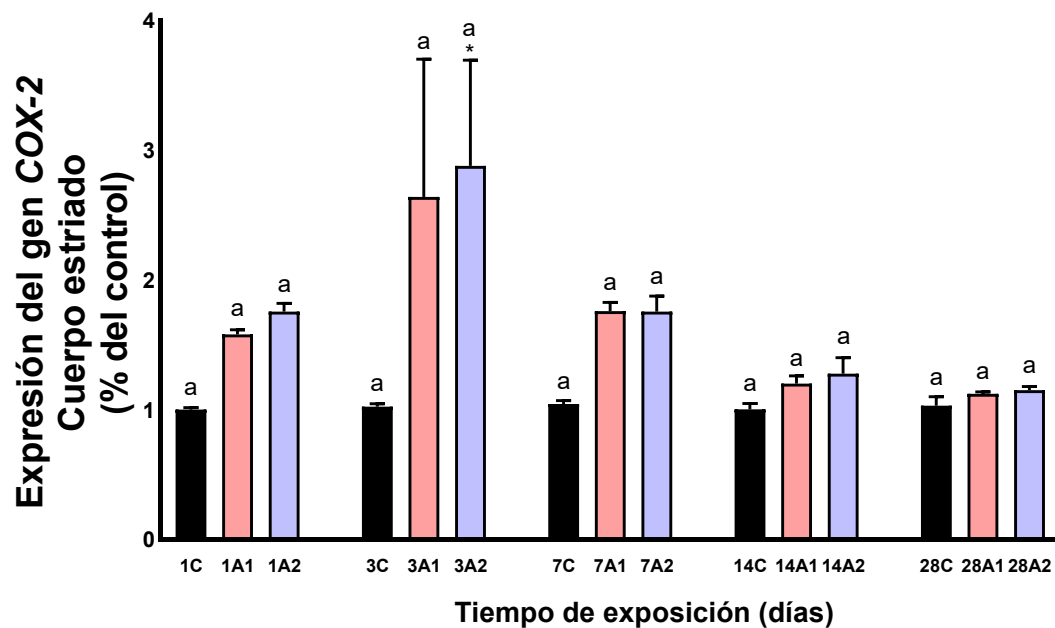


Figura 80. Expresión molecular de *COX-2* en cuerpo estriado de ratas por efecto de la exposición a la hipoxia de la altura (A1: 3151 m. s. n. m., y A2: 4214 m. s. n. m.) por periodos de 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se presentan como variaciones porcentuales (%) del control, y como media $\pm$ SEM. Las diferencias significativas entre los grupos A1 (barras rojas), A2 (barras azules) y el control (barras negras) en cada punto temporal se indican como * $p \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías, utilizando la prueba post hoc de Tukey.

V. DISCUSIÓN

El presente estudio demuestra que la exposición a condiciones de hipoxia ambiental, de ratas expuestas a una elevada altitud (3151 m. s. n. m.) y gran altitud (4214 m. s. n. m.), provocaron alteraciones fisiológicas y moleculares significativas en el cerebro relacionadas al estrés oxidativo, inflamación y muerte celular. Estas condiciones de baja presión parcial de oxígeno desencadenan un estrés oxidativo severo, manifestado por el aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y malondialdehído (MDA), un biomarcador de peroxidación lipídica. A nivel enzimático, se observó un aumento en la actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD), probablemente como mecanismo compensatorio frente a la acumulación de radicales libres, junto con una reducción de la actividad de la enzima catalasa, lo que contribuye a un desequilibrio del sistema antioxidante endógeno. Además del componente oxidativo, se evidenció una respuesta inflamatoria significativa, caracterizada por la sobreexpresión de genes proinflamatorios clave como el factor nuclear kappa B (*NF-κB*), el factor de necrosis tumoral alfa (*TNF-α*) y la ciclooxigenasa-2 (*COX-2*). Estos mediadores están estrechamente asociados con procesos de inflamación crónica y daño neuronal, especialmente en contextos de hipoxia sostenida. Paralelamente, se documentaron alteraciones en las vías de apoptosis celular, reflejadas en la regulación diferencial de genes relacionados con la muerte celular programada. Se observó una sobreexpresión de genes proapoptóticos como Caspase-3 (*CASP3*), *BAX*, *BNIP3* y *APAF-1*, junto con una disminución en la expresión de *BCL2*, un regulador antiapoptótico clave. Este patrón de expresión sugiere una activación de las vías intrínseca y extrínseca de apoptosis, lo cual puede conducir a la pérdida progresiva de células neuronales y a disfunciones en las redes neuronales afectadas.

Es importante señalar que los efectos observados fueron dependientes tanto del tiempo de exposición como de la región cerebral analizada. Regiones como el hipocampo, la corteza cerebral, hipotálamo y cuerpo estriado mostraron diferentes grados de susceptibilidad, con respuestas más pronunciadas a medida que aumentaba la altitud y el tiempo de permanencia en condiciones hipóxicas. Este hallazgo refuerza la idea de que el cerebro responde de manera heterogénea a la hipoxia, con ciertos núcleos y estructuras más vulnerables a los efectos del estrés oxidativo e inflamatorio. En conjunto, estos resultados nos permiten mejorar la comprensión de los efectos neurofisiopatológicos de la hipoxia ambiental en modelos animales.

La función celular depende fundamentalmente de la disponibilidad de oxígeno, y las fluctuaciones en la concentración de oxígeno pueden alterar la homeostasis y comprometer la viabilidad celular. El suministro de oxígeno varía entre los distintos órganos y, en el cerebro, la presión parcial de oxígeno (pO_2) no es uniforme en todas las regiones (Carreau *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2015). Los entornos de gran altitud se caracterizan por una presión de oxígeno reducida, junto con otros factores de estrés como las bajas temperaturas, la baja humedad y el aumento de la radiación, factores que afectan significativamente a la fisiología del cerebro (Hultgren, 1997). La exposición crónica a estas condiciones provoca cambios estructurales en el cerebro, debidos en gran medida a la alteración del flujo sanguíneo cerebral y al aumento de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (Garrido *et al.*, 1996; Kottke *et al.*, 2015), y se ha relacionado con deterioros cognitivos (Hayashi *et al.*, 2005, An *et al.*, 2022).

La hipoxia, definida como una disminución en la disponibilidad de oxígeno a nivel tisular o celular, representa una condición de estrés que altera profundamente el metabolismo energético y la homeostasis redox. Uno de los efectos primarios de la hipoxia es el deterioro de la fosforilación oxidativa mitocondrial, proceso en el cual el oxígeno actúa como aceptor final de electrones en la cadena respiratoria. La reducción de la eficiencia de esta cadena interrumpe el flujo de electrones y favorece la fuga de electrones a oxígeno molecular, lo que conduce a una producción excesiva de especies reactivas de oxígeno (ROS). Este aumento de ROS puede provocar daño a proteínas, lípidos y ADN, afectando así múltiples funciones celulares. Además, la hipoxia estimula la actividad de la enzima óxido nítrico sintasa (NOS), especialmente la inducible (iNOS),

que incrementa la producción de óxido nítrico (ON). La interacción de ON con ROS genera especies aún más reactivas, como el peroxinitrito, amplificando el estrés oxidativo y contribuyendo a la disfunción mitocondrial. Dependiendo de la intensidad y la duración de la exposición hipóxica, las células pueden activar rutas adaptativas o, en casos extremos, sucumbir al daño mediante mecanismos de citotoxicidad, necrosis o apoptosis (Schönenberger y Kovacs, 2015).

Los ROS son subproductos naturales de la respiración mitocondrial, que se forman cuando los electrones se escapan de la cadena de transporte de electrones y reaccionan con el oxígeno molecular para formar aniones superóxido. En condiciones normóxicas, los ROS se generan en niveles bajos y desempeñan funciones críticas en la señalización celular (Turrens, 1997; Genova *et al.*, 2001; Alvarez *et al.*, 2003; Zorov *et al.*, 2014). Sin embargo, paradójicamente, varios estudios han informado de una producción elevada de ROS en condiciones hipóxicas (Chandel *et al.*, 1998; Waypa y Schumacker, 2002). En consonancia con estos hallazgos, nuestro estudio mostró un aumento significativo de los niveles de ROS en la corteza frontal, el hipocampo y el cuerpo estriado en condiciones de hipoxia de elevada altitud (A1) y gran altitud (A2). Los niveles de ROS también aumentaron progresivamente con la exposición prolongada (3, 7, 14 y 28 días), lo que respalda la hipótesis de que el estrés hipóxico sostenido aumenta la carga oxidativa. El exceso de ROS genera un estado de estrés oxidativo que provoca daños significativos en las principales macromoléculas celulares como los lípidos, induciendo la peroxidación, afectando la integridad de las membranas; en las proteínas, provocan oxidaciones irreversibles que alteran su estructura y función; y en el ADN, causan mutaciones y roturas de cadena que comprometen la estabilidad genómica. Estos daños activan distintas vías de muerte celular, incluyendo apoptosis, necrosis, ferroptosis y autofagia disfuncional, dependiendo de la magnitud y duración del desequilibrio redox. Como consecuencia, el exceso de ROS no solo compromete la viabilidad celular, sino que también está estrechamente vinculado a la fisiopatología de diversas enfermedades crónicas y degenerativas (Lushchak y Storey, 2021).

Estudios anteriores han demostrado que los niveles de ROS pueden aumentar rápidamente en cuestión de minutos tras la exposición a la hipoxia, alcanzando su máximo alrededor de los 30 minutos y resolviéndose parcialmente después de 48 horas (Leveque *et al.*, 2023). Las personas que no están aclimatadas a la altitud son especialmente susceptibles al estrés oxidativo, lo que provoca una disfunción celular a través del daño mediado por radicales libres a los lípidos, las proteínas y el ADN (Guzy y Schumacker, 2006; Chakraborty y Roychoudhury, 2022).

El MDA, un subproducto de la peroxidación lipídica, es un marcador bien establecido del estrés oxidativo. En nuestro estudio, los niveles de MDA en el hipotálamo alcanzaron su máximo el día 1 de hipoxia muy alta altitud y disminuyeron el día 28. Por el contrario, los niveles de MDA en la corteza frontal se mantuvieron elevados durante todo el periodo de exposición. El hipocampo mostró aumentos significativos los días 1, 3 y 7, mientras que el cuerpo estriado mostró elevaciones los días 1, 3, 7 y 14. Estudios anteriores han demostrado patrones similares, con un aumento del MDA observado entre las 6 y las 48 horas de exposición a la hipoxia hipobárica simulada de 7620 m (Himadri *et al.*, 2010; Agrawal *et al.*, 2017). Además, la exposición progresiva a hipoxia hipobárica (simulada a una altitud de 5000 m) induce un aumento significativo en los niveles de MDA en el cerebro de ratas. Se demostró que este incremento fue dependiente del tiempo, alcanzando su punto máximo a las 24 horas de exposición. El MDA, como marcador de peroxidación lipídica, reflejó un daño oxidativo sustancial en las membranas celulares cerebrales bajo condiciones hipóxicas. Su aumento estuvo directamente correlacionado con una disminución en los niveles de antioxidantes endógenos (GPx y SOD), lo que indica un desequilibrio redox severo (Wang *et al.*, 2013). Maiti *et al.* (2008), en estudios en ratas expuestas a hipoxia hipobárica simulada de extrema altitud (6100 m) encontró aumentos en los niveles de MDA hasta los 21 días de exposición.

Las enzimas antioxidantes como la SOD y la catalasa son esenciales para mantener el equilibrio redox. La SOD cataliza la conversión de los radicales superóxidos en peróxido de hidrógeno, que posteriormente se descompone en agua y oxígeno por la catalasa. En nuestro estudio, la actividad de la SOD aumentó, mientras que la actividad de la catalasa disminuyó en todas las regiones del cerebro, especialmente en condiciones de hipoxia de gran altitud. Estos hallazgos sugieren un desequilibrio en el sistema de defensa

antioxidante. Los informes bibliográficos sobre los efectos de la hipoxia en estas enzimas siguen siendo contradictorios. En un estudio realizado *in vivo* se evaluó el efecto de la hipoxia hipobárica intermitente sobre el estado de estrés oxidativo en ratas, con un enfoque particular en la actividad de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD) y catalasa en eritrocitos. Los animales fueron expuestos a condiciones simuladas de altitud (5000 m) durante 4 horas diarias, 5 días por semana, durante 22 días. Los resultados mostraron que no hubo cambios significativos en la actividad de SOD ni de catalasa en los eritrocitos al finalizar la exposición ni después de 20 o 40 días de recuperación en normoxia. Estos hallazgos indican que el protocolo de hipoxia intermitente utilizado no alteró el balance antioxidante en la sangre periférica, sugiriendo una adecuada adaptación eritrocitaria frente al estrés oxidativo inducido por la hipoxia (Esteve *et al.*, 2010), mientras que otro estudio se evaluó el efecto de la exposición intermitente a hipoxia hipobárica sobre el sistema antioxidante cardíaco en ratas, y tras someter a los animales a cuatro ciclos de hipoxia (4 días en altitud simulada de 4600 m seguidos de 4 días de normoxia), se observó un aumento significativo en la actividad y expresión de ambas enzimas en tejido cardíaco. La SOD mostró una mayor capacidad para neutralizar radicales superóxidos, mientras que la catalasa facilitó la eliminación del peróxido de hidrógeno, reduciendo así el daño oxidativo. Estos cambios enzimáticos estuvieron asociados a una mejora en la función cardiovascular, lo que sugiere que la hipoxia hipobárica induce un precondicionamiento adaptativo mediante la activación de defensas antioxidantes endógenas (Aguilar *et al.*, 2018). Por el contrario, otro estudio investigó las respuestas celulares al estrés oxidativo y del retículo endoplásmico en ratas expuestas crónicamente a una altitud simulada de 5 000 metros durante varias semanas, con el objetivo de entender los mecanismos implicados en el desarrollo de hipertensión pulmonar de altura. Uno de los hallazgos centrales fue la disminución significativa de la actividad de la SOD en el tejido pulmonar de animales expuestos a hipoxia crónica. Esta reducción en la actividad de SOD, enzima clave en la dismutación del anión superóxido a peróxido de hidrógeno, indica un desequilibrio del sistema antioxidante endógeno que favorece la acumulación de ROS, sugiriendo la pérdida de función de SOD es un factor determinante en la progresión de la hipertensión pulmonar inducida por hipoxia crónica. (Pu *et al.*, 2020), y la exposición hipobárica causó daño pulmonar inducido por hipoxia aguda simulada a gran altitud (9144 m) en ratas, ocasionando una reducción significativa en la actividad de las enzimas antioxidantes SOD y catalasa en el tejido pulmonar,

indicando un estado de estrés oxidativo agudo (Purushothaman *et al.*, 2011). Cabe destacar que los animales expuestos a condiciones equivalentes a 9144 m, durante 5 horas, mostraron una reducción significativa en la actividad de SOD cerebral, asociada con un aumento en los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) y daño vascular (Purushothaman *et al.*, 2008). Himadri y colaboradores (2010), en un estudio en ratas expuestas a hipoxia simulada (7620 m) hasta 48 horas, mostraron una reducción significativa en los niveles de SOD y GPx en el tejido cerebral tras 24 horas de exposición, en comparación con animales en normoxia. Esta disminución se correlacionó con un incremento en los niveles de ROS y malondialdehído (MDA), lo que indica peroxidación lipídica acentuada y daño oxidativo a nivel celular. Aunque el estudio no midió directamente la actividad de catalasa (CAT), la reducción sinérgica observada en SOD y GPx sugiere un colapso general del sistema antioxidante enzimático, lo cual compromete la capacidad del cerebro para detoxificar ROS como el anión superóxido y el peróxido de hidrógeno. Esta alteración favorece el daño endotelial y la ruptura de la barrera hematoencefálica, contribuyendo al edema cerebral observado a las 24 horas de hipoxia. Similares resultados se obtuvieron de disminución significativa en los niveles de SOD y CAT en cerebro de ratas expuestas a hipoxia simulada de también 7200 (Gong *et al.*, 2018).

También evaluamos la expresión de marcadores apoptóticos clave, entre ellos *CASP3*, *BAX*, *BNIP3*, *APAF-1*, *BCL2* y *AKT1*. Excepto *BCL2*, todos se regulaban al alza de forma significativa en el hipotálamo, la corteza, el hipocampo y el cuerpo estriado en respuesta a la hipoxia de elevada altitud (A1) y gran altitud (A2) y la duración de la exposición (1-28 días). Estos resultados concuerdan con hallazgos previos de actividad elevada de *CASP3* tras 6 horas de hipoxia de extrema altitud, que representa un estrés severo para el tejido cerebral, activando múltiples vías de muerte celular programada. Los resultados de dos estudios evidenciaron que tanto la hipoxia respiratoria aguda seguida de reoxigenación como la hipoxia hipobárica crónica inducen apoptosis neuronal mediada por *CASP3*, particularmente en regiones vulnerables del cerebro como el hipocampo. En el primer estudio, la exposición a hipoxia aguda seguida de reoxigenación provocó un incremento significativo en la expresión de *CASP3* activa en diversas regiones del encéfalo de rata. Este fenómeno se asoció con un aumento de especies reactivas de

oxígeno (ROS), daño mitocondrial y liberación de citocromo c, eventos que convergen en la activación de la vía intrínseca de apoptosis dependiente de caspasas. En el segundo estudio, se demostró que la hipoxia hipobárica crónica produce apoptosis en hipocampo, caracterizada por una marcada elevación de *CASP3*, lo que sugiere que la señalización excitotóxica y neurotrófica alterada bajo hipoxia de extrema altitud también promueve la activación de caspasas como mecanismo de degeneración neuronal (Hota *et al.*, 2008; Coimbra-Costa *et al.*, 2017).

En otro estudio se evaluó el impacto diferencial de la hipoxia hipobárica y normobárica de extrema altitud sobre la apoptosis y autofagia en células PC12 de feocromocitoma de rata, los resultados mostraron que la hipoxia, en ambas condiciones, induce activación de la vía apoptótica, destacando un incremento significativo en la expresión de *CASP3*, enzima efectora central en la apoptosis, y particularmente, la hipoxia hipobárica generó una activación más pronunciada de *CASP3* en comparación con la hipoxia normobárica, indicando que la disminución de presión atmosférica intensifica la señalización apoptótica mediada por caspasas, lo que sugiere que la hipoxia hipobárica representa un estímulo más agresivo para la activación del programa de muerte celular en células neuronales (Yin *et al.*, 2025).

También se ha demostrado que la hipoxia hipobárica deteriora la función mitocondrial e induce la apoptosis neuronal a través de la regulación al alza de *CASP3* y *BAX* y la regulación a la baja de *BCL2*. En los estudios de Huan *et al.* (2023) y Jing *et al.* (2024), se utilizaron ratones expuestos a cámaras hipobáricas para simular condiciones de extrema altitud, observándose alteraciones significativas en los reguladores moleculares de la vía mitocondrial de apoptosis neuronal. Ambos trabajos demostraron que la exposición a altitudes simuladas entre 5500 m y 7000 m indujo un marcado desequilibrio en los niveles de *CASP3*, *BAX* y *BCL-2*. En particular, la hipoxia hipobárica provocó un aumento en la expresión de *CASP3*, enzima efectora central de la apoptosis, indicando activación de la fase terminal del proceso apoptótico. Paralelamente, se reportó una sobreexpresión de *BAX*, proteína proapoptótica que favorece la permeabilización mitocondrial, facilitando la liberación de citocromo c y la activación de las caspasas. En contraste, se observó una disminución de *BCL-2*, proteína antiapoptótica que normalmente antagoniza el efecto de *BAX*. Estos cambios moleculares fueron consistentes con daño neuronal observable, especialmente en regiones como el

hipocampo y la corteza cerebral, y estuvieron relacionados con deterioro cognitivo y disfunción mitocondrial. Los resultados confirman que la hipoxia hipobárica simulada de extrema altitud activa de forma significativa la vía intrínseca de apoptosis en el cerebro. Estos procesos han sido validados por estudios histológicos y de inmunofluorescencia (Cui *et al.*, 2023; Shushanyan *et al.*, 2023) y confirmados por análisis transcriptómicos en ratones expuestos a hipoxia (Shi *et al.*, 2022).

Paralelamente, observamos un aumento de la expresión de genes relacionados con la inflamación (*NF-κB*, *TNF-α* y *COX-2*) y una disminución de la expresión de genes antioxidantes (*NRF2* y *GPx*) en condiciones de hipoxia de elevada altitud (A1) y gran altitud (A2), especialmente con una exposición prolongada. Se han descrito patrones similares en el hipocampo de ratones expuestos a 7000 m durante 1-7 días, que muestran una expresión elevada de *NF-κB*, *COX-2* y *TNF-α* que fueron evaluadas por ensayos inmunoenzimáticos y por qPCR, y es conocido que estas citoquinas están asociadas al daño neuronal, activación de células gliales y disfunción sináptica (Zhang *et al.*, 2023). También en un modelo murino de lesión cerebral inducida por hipoxia hipobárica (gran altitud), se observó una activación significativa de la respuesta inflamatoria, marcada por el aumento de citoquinas *TNF-α*, así como la activación de las vías proinflamatorias *NF-κB* y *COX2*. La hipoxia desencadenó una elevación de *TNF-α* en el tejido cerebral, citoquinas clave en la amplificación de la respuesta inflamatoria, contribuyendo al daño neuronal y a la disfunción de la barrera hematoencefálica; y la vía de señalización *NF-κB* mostró una activación sostenida, evidenciada por el aumento de p-*NF-κB*-p65, lo cual favorece la transcripción de genes inflamatorios. Asimismo, *COX-2*, una enzima inducida por *NF-κB*, se elevó de manera significativa; sin embargo, se observó la disminución de la enzima antioxidante *GPx* (Jiang *et al.*, 2022).

La inflamación inducida por la hipoxia también se ha documentado en los pulmones (6500 m) y los corazones (6000 m) de ratas, caracterizada por un aumento de la expresión de *TNF-α* y una reducción de la expresión de *NRF2*. La exposición a la hipoxia hipobárica, como la que ocurre en extrema altitud, provoca respuestas fisiopatológicas complejas caracterizadas por inflamación sistémica y estrés oxidativo. Los estudios realizados en ratas bajo condiciones de hipoxia aguda simulan el daño pulmonar y cardíaco inducido por extrema altitud, permitiendo identificar alteraciones clave en biomarcadores inflamatorios y antioxidantes. Se observó que la hipoxia hipobárica indujo

una elevada expresión de $TNF-\alpha$, tanto en tejido pulmonar como en tejido cardíaco. Este incremento refleja la activación del eje inflamatorio clásico mediado por $NF-\kappa B$, que desencadena la infiltración de células inmunes, daño endotelial y ruptura de la integridad tisular. En caso de tejido pulmonar, esto se podría traducir en edema alveolar, alteración de la barrera epitelial y compromiso de la oxigenación. En el corazón, favorece procesos de daño celular que predisponen a necrosis o muerte celular programada. En paralelo, la hipoxia redujo de forma significativa la actividad del factor de transcripción $NRF2$, lo que compromete la activación de genes antioxidantes, y podría disminuir la respuesta antioxidante para neutralizar especies reactivas de oxígeno (ROS), promoviendo un ambiente oxidante que potencia el daño celular y agrava la lesión inducida por hipoxia (Wang *et al.*, 2024; Yang *et al.*, 2024; Liu *et al.*, 2025).

Asimismo, un estudio encontró aumentos concurrentes de la expresión de $NRF2$, $TNF-\alpha$ y $NF-\kappa B$ en los cerebros de ratones expuestos a 8000 m, lo que refleja la compleja interacción entre el estrés oxidativo y las respuestas inflamatorias. La hipoxia hipobárica desencadena un conjunto de respuestas moleculares que contribuyen al deterioro neurológico. En el presente estudio hemos encontrado molecularmente una alta expresión de citoquinas inflamatorias que habrían sido estimuladas por la producción excesiva de ROS. En modelos *in vivo*, la exposición a hipoxia hipobárica produjo un aumento en la expresión de $TNF-\alpha$, indicando una activación del eje neuroinflamatorio, y se observó una disminución de la expresión y actividad del factor de transcripción $NRF2$, lo cual sugiere una supresión de la respuesta antioxidante endógena. Esta reducción compromete la capacidad del sistema nervioso central para neutralizar especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que intensifica el estrés oxidativo y la lesión celular (Shi *et al.*, 2024).

VI. CONCLUSIONES

1. La hipoxia en gran altitud altera la homeostasis redox y vuelve a las neuronas más vulnerables al daño oxidativo, activando procesos apoptóticos e inflamatorios que pueden desencadenar trastornos neurológicos agudos y contribuir a deterioros cognitivos y motores crónicos.
2. Los niveles de ROS aumentan de forma significativa y progresiva en la corteza frontal, hipocampo y cuerpo estriado durante la exposición prolongada a hipoxia, indicando un desequilibrio redox persistente causado por la baja disponibilidad de oxígeno.
3. Los niveles de MDA también se elevan de manera significativa y continua en las mismas regiones cerebrales bajo hipoxia prolongada, evidenciando un aumento sostenido del daño por peroxidación lipídica.
4. El aumento de la actividad SOD y la disminución de actividad de la catalasa en todas las regiones cerebrales indican una desregulación del sistema antioxidante, reflejando una respuesta compensatoria inicial al incremento de ROS seguida de una reducción en la capacidad para degradar peróxido de hidrógeno.
5. La hipoxia prolongada induce un aumento significativo en la expresión de genes proapoptóticos (*CASP3*, *BAX*, *BNIP3*, *APAF-1*) y una disminución de *BCL2*, lo que sugiere una activación sostenida de vías que favorecen la muerte celular en diversas regiones cerebrales.

6. La expresión de *NF-κB*, *TNF-α* y *COX-2* aumenta de manera progresiva durante la exposición a hipoxia, indicando una activación continua de rutas proinflamatorias mediadas por NF-κB como respuesta al estrés por la hipoxia.

VII. RECOMENDACIONES

1. Si bien este estudio aporta información valiosa y detallada sobre los mecanismos moleculares que intervienen en la lesión cerebral inducida por hipoxia, aún existen vacíos significativos de conocimiento que deben ser abordados. Las investigaciones futuras deberían enfocarse en el diseño y evaluación de estrategias neuroprotectoras integrales, que incluyan tanto intervenciones farmacológicas como nutracéuticas dirigidas a contrarrestar los procesos de estrés oxidativo, neuroinflamación y apoptosis neuronal. En este sentido, agentes como antioxidantes específicos, compuestos con propiedades antiinflamatorias y moduladores selectivos de las rutas de muerte celular se perfilan como alternativas de alto potencial para reducir la magnitud del daño cerebral asociado a la hipoxia.
2. También se vuelve esencial la realización de estudios longitudinales que permitan evaluar, con un seguimiento prolongado, los efectos de la exposición crónica a hipoxia sobre la estructura y función cerebral. Estos trabajos deberían determinar en qué medida las alteraciones moleculares y fisiológicas son reversibles tras un periodo de reoxigenación, así como identificar los factores que condicionan la recuperación. Tal conocimiento será crucial para anticipar las consecuencias a largo plazo y desarrollar programas de rehabilitación y prevención más efectivos.
3. De igual forma, las investigaciones venideras deberían considerar la especificidad regional y celular de las respuestas al daño hipóxico. Esto implica no solo identificar qué regiones del cerebro son más vulnerables, sino también clarificar el papel de distintos tipos celulares, en especial las células gliales como la

microglía y los astrocitos, que desempeñan funciones clave tanto en la defensa como en la exacerbación del daño neuronal. Una comprensión más detallada de esta dinámica celular permitirá formular terapias dirigidas con mayor precisión.

4. En vista del creciente interés y la mayor frecuencia de exposición humana a grandes altitudes —ya sea por actividades turísticas, prácticas deportivas de alta exigencia o trabajos en entornos de altura— se vuelve imperativo realizar estudios traslacionales en poblaciones humanas. Estas investigaciones servirán para validar la relevancia clínica de los hallazgos experimentales obtenidos en modelos animales y contribuirán al diseño de estrategias neuroprotectoras adaptadas a las características individuales de cada población.
5. Asimismo, la incorporación de tecnologías ómicas de última generación, como la transcriptómica, la proteómica y la metabolómica, podría ofrecer un mapa más completo y detallado de las redes moleculares alteradas por la hipoxia. Estos enfoques integrados facilitarían la identificación de biomarcadores tempranos y de nuevas dianas terapéuticas, fortaleciendo la capacidad de predecir, prevenir y tratar las lesiones cerebrales relacionadas con la altitud de manera más efectiva y personalizada.
6. Finalmente, se debería no solo profundizar en la comprensión de los complejos mecanismos fisiopatológicos asociados a la hipoxia de elevada y gran altitud, sino también acelerar el desarrollo de intervenciones preventivas y terapéuticas más específicas y eficaces. Esto representará un avance significativo en la protección de la salud cerebral de las personas expuestas a entornos de baja presión de oxígeno.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aboouf MA, Thiersch M, Soliz J, Gassmann M, Schneider Gasser EM. 2023. The Brain at High Altitude: From Molecular Signaling to Cognitive Performance. *Int J Mol Sci*, 24, 10179. <https://doi.org/10.3390/ijms241210179>.

AbuHasan Q, Reddy V, Siddiqui W. 2023. StatPearl [Internet], [17 julio 2023]. Neuroanatomy, Amygdala. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537102/>

Adam-Vizi V, 2005. Production of reactive oxygen species in brain mitochondria: contribution by electron transport chain and non-electron transport chain sources. *Antioxid. Redox Signal* 7: 1140–1149.

Agrawal A, Rathor R, Suryakumar G. 2017. Oxidative protein modification alters proteostasis under acute hypobaric hypoxia in skeletal muscles: A comprehensive in vivo study. *Cell Stress Chaperones* 22, 429–443. <https://doi.org/10.1007/s12192-017-0795-8>.

Aguilar M, González-Candia A, Rodríguez J, Carrasco-Pozo C, Cañas D, García-Herrera C, Herrera EA, Castillo RL. 2018. Mechanisms of Cardiovascular Protection Associated with Intermittent Hypobaric Hypoxia Exposure in a Rat Model: Role of Oxidative Stress. *Int J Mol Sci* 19, 366. <https://doi.org/10.3390/ijms19020366>.

Ainslie PN, Subudhi AW. 2014. Cerebral blood flow at high altitude. *High Alt Med Biol* 15(2): 133–140. doi:10.1089/ham.2013.1138.

- Alvarez S, Valdez LB, Zaobornyj T, Boveris A. 2003.** Oxygen dependence of mitochondrial nitric oxide synthase activity. *Biochem Biophys Res Commun* 305, 771–775. [https://doi.org/10.1016/s0006-291x\(03\)00818-0](https://doi.org/10.1016/s0006-291x(03)00818-0).
- An X, Tao G, Zhang X, Ma H, Wang Y. 2022.** Attention Network Changes of High-Altitude Migrants. *Aerosp Med Hum Perform* 93, 791–799. <https://doi.org/10.3357/AMHP.6061.2022>.
- Aon MA, Stanley BA, Sivakumaran V, Kembro JM, O'Rourke B, Paolocci N, Cortassa S. 2012.** Glutathione/thioredoxin systems modulate mitochondrial H₂O₂ emission: an experimental-computational study. *J Gen Physiol* 139: 479–491.
- Apel K, Hirt H, 2004.** Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol* 55: 373–399.
- Bahrke MS, Shukitt-Hale B. 1993.** Effects of altitude on mood, behaviour and cognitive functioning. A review. *Sports Med* 16: 97–125. doi: 10.2165/00007256-199316020-00003.
- Banasiak KJ, Xia Y, Haddad GG. 2000.** Mechanisms underlying hypoxia-induced neuronal apoptosis. *Prog Neurobiol* 62, 215–249. [https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(00\)00011-3](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(00)00011-3).
- Barath AS, Rusheen AE, Rojas Cabrera JM, Price JB, Owen RL, Shin H, Jang DP, Blaha CD, Lee KH, Oh Y. 2020.** Hypoxia-Associated Changes in Striatal Tonic Dopamine Release: Real-Time in vivo Measurements with a Novel Voltammetry Technique. *Front Neurosci* 14: 869. doi: 10.3389/fnins.2020.00869.
- Basheeruddin M, Qausain S. 2024.** Hypoxia-Inducible Factor 1-Alpha (HIF-1 α): An Essential Regulator in Cellular Metabolic Control. *Cureus* 16, e63852. <https://doi.org/10.7759/cureus.63852>.
- Bradl M, Lassmann H. 2010.** Oligodendrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol* 119(1): 37-53.
- Brennan-Minnella AM, Won SJ, Swanson RA. 2015.** NADPH oxidase-2: linking glucose, acidosis, and excitotoxicity in stroke. *Antioxid Redox Signal* 22: 161–174.

Brinkmann BG, Agarwal A, Sereda MW, Garratt AN, Müller T, Wende H, Stassart RM, Nawaz S, Humml C, Velanac V, Radyushkin K, Goebbels S, Fischer TM, Franklin RJ, Lai C, Ehrenreich H, Birchmeier C, Schwab MH, Nave KA. 2008. Neuregulin-1/ErbB signaling serves distinct functions in myelination of the peripheral and central nervous system. *Neuron* 59(4): 581-95.

Bruick RK, McKnight SL. 2001. A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF. *Science* 294:1337–1340. doi: 10.1126/science. 1066373

Carreau A, El Hafny-Rahbi B, Matejuk A, Grillon C, Kieda C. 2011. Why is the partial oxygen pressure of human tissues a crucial parameter? Small molecules and hypoxia. *J Cell Mol Med* 15, 1239–1253. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2011.01258.x>.

Chakraborty S, Roychoudhury S. 2022. Pathological Roles of Reactive Oxygen Species in Male Reproduction. *Adv Exp Med Biol* 1358, 41–62. https://doi.org/10.1007/978-3-030-89340-8_3.

Chandel NS, Maltepe E, Goldwasser E, Mathieu CE, Simon MC, Schumacker PT. 1998. Mitochondrial reactive oxygen species trigger hypoxia-induced transcription. *Proc Natl Acad Sci USA* 95, 11715–11720. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.20.11715>.

Chauhan G, Kumar G, Roy K, Kumari P, Thondala B, Kishore K, Panjwani U, Ray K. 2022. Hypobaric hypoxia induces deficits in adult neurogenesis and social interaction via cyclooxygenase-1/ EP1 receptor pathway activating NLRP3 inflammasome. *Mol Neurobiol* 59(4):c2497-2519. doi: 10.1007/s12035-022-02750-5.

Chayer C, Freedman M. 2001. Frontal lobe functions. *Curr Neurol Neurosci Rep* 1(6):547-52.

Chen GZ, Qin J, Yu J. 2013. Incidence of acute mountain sickness in young adults at 3200 meters: comparison of the Lake Louise Scoring and Chinese Scoring Systems. *Genet Mol Res* 12: 6790-6801.

Chen R, Lai, UH, Zhu L, Singh A, Ahmed M, Forsyth NR. 2018. Reactive oxygen species formation in the brain at different oxygen levels: the role of hypoxia inducible factors. *Front Cell Dev Biol* 6: 132.

Chen X, Liu J, Wang J, Xin Z, Zhang Q, Zhang W, Xi Y, Zhu Y, Li C, Li J, Han Y, Liu J, Li B, Luo W, Chen J. 2021. Altered resting-state networks may explain the executive impairment in young health immigrants into high-altitude area. *Brain Imaging Behav* 15(1): 147-156. doi: 10.1007/s11682-019-00241-1.

Chouchani ET, Pell VR, Gaude E, Aksentijevic D, Sundier SY, Robb EL, Logan A, Nadtochiy SM, Ord ENJ, Smith AC, Eyassu F, Shirley R, Hu CH, Dare AJ, James AM, Rogatti S, Hartley RC, Eaton S, Costa ASH, Brookes PS, Davidson SM, Duchon MR, Saeb-Parsy K, Shattock MJ, Robinson AJ, Work LM, Frezza C, Krieg T, Murphy MP. 2014. Ischaemic accumulation of succinate controls reperfusion injury through mitochondrial ROS. *Nature* 515: 431–435.

Chouchani ET, Pell VR, James AM, Work LM, Saeb-Parsy K, Frezza C, Krieg T, Murphy MP, 2016. A unifying mechanism for mitochondrial superoxide production during ischemia-reperfusion injury. *Cell Metab* 23: 254–263.

Coenen VA, Schumacher LV, Kaller C, Schlaepfer TE, Reinacher PC, Egger K, Urbach H, Reisert M. 2018. The anatomy of the human medial forebrain bundle: Ventral tegmental area connections to reward-associated subcortical and frontal lobe regions. *Neuroimage Clin.* 18:770-783.

Coimbra-Costa D, Alva N, Duran M, Carbonell T, Rama R. 2017. Oxidative stress and apoptosis after acute respiratory hypoxia and reoxygenation in rat brain. *Redox Biol* 12:216-225. doi: 10.1016/j.redox.2017.02.014.

Cui C, Jiang X, Wang Y, Li C, Lin Z, Wei Y, Ni Q. 2024. Cerebral Hypoxia-Induced Molecular Alterations and Their Impact on the Physiology of Neurons and Dendritic Spines: A Comprehensive Review. *Cell. Mol. Neurobiol.* 44, 58. <https://doi.org/10.1007/s10571-024-01491-4>.

Cui G, Jun SB, Jin X, Pham MD, Vogel SS, Lovinger DM, Costa RM. 2013. Concurrent activation of striatal direct and indirect pathways during action initiation. *Nature* 494(7436): 238-42.

Cui J, Ma Q, Zhang C, Li Y, Liu J, Xie K, Luo E, Zhai M, Tang C. 2023. Keratin 18 Depletion as a Possible Mechanism for the Induction of Apoptosis and Ferroptosis

in the Rat Hippocampus After Hypobaric Hypoxia. *Neuroscience* 513, 64–75.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2022.11.009>.

Dasgupta A, Klein K. 2014. Methods for measuring oxidative stress in the laboratory. En: *Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements*; Academic Press: Cambridge p19–40.

Daugherty AM, Bender AR, Raz N, Ofen N. 2016. Age differences in hippocampal subfield volumes from childhood to late adulthood. *Hippocampus* 26(2):220-8.

Davis C, Hackett P. 2017. Advances in the Prevention and Treatment of High Altitude Illness. *Emerg Med Clin North Am* 35(2):241-260.
doi:10.1016/j.emc.2017.01.002

de Aquino Lemos V, Antunes HK, dos Santos RV, Lira FS, Tufik S, de Mello MT. 2012. High altitude exposure impairs sleep patterns, mood, and cognitive functions. *Psychophysiology* 49: 1298–1306. doi: 10.1111/j.1469-8986.2012.01411.x.

DelMastro K, Hellem T, Kim N, Kondo D, Sung YH, Renshaw PF. 2011. Incidence of major depressive episode correlates with elevation of substate region of residence. *J Affect Disord* 129:376–379. doi: 10.1016/j.jad.2010.10.001.

Deng X, Wu K, Wan J, Li L, Jiang R, Jia M, Jing Y, Zhang L. 2012. Aminotriazole attenuated carbon tetrachloride-induced oxidative liver injury in mice. *Food Chem Toxicol* 50(9): 3073-8. doi: 10.1016/j.fct.2012.05.052.

Denko NC, Fontana LA, Hudson KM, Sutphin PD, Raychaudhuri S, Altman R. 2003. Investigating hypoxic tumor physiology through gene expression patterns. *Oncogene* 22: 5907–5914. doi: 10.1038/sj.onc.1206703

Dickinson J. 1983. High altitude cerebral edema: cerebral acute mountain sickness. *Semin Respir Crit Care Med* 5:151–158.

Dillingham CM, Frizzati A, Nelson AJ, Vann SD. 2015. How do mammillary body inputs contribute to anterior thalamic function? *Neurosci Biobehav Rev* 54:108-19.

Drevets WC, Gautier C, Price JC, Kupfer DJ, Kinahan PE, Grace AA, Price JL, Mathis CA. 2001. Amphetamine-induced dopamine release in human ventral striatum

correlates with euphoria. *Biol Psychiatry* 49:81–96. doi: 10.1016/S0006-3223(00)01038-6.

El-Baba R, Schury M. 2023. Neuroanatomy, Frontal Cortex. [Internet], [29 mayo 2023]. In: StatPearls. Treasure Island (FL): Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554483/>

Elmore S. 2007. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol* 35:495–516.

Erecińska M, Silver IA. 1994. Ions and energy in mammalian brain. *Prog Neurobiol* 43(1): 37–71. doi:10.1016/0301-0082(94)90015-9.

Esteva S, Pedret R, Fort N, Torrella JR, Pagès T, Viscor G. 2010. Oxidative stress status in rats after intermittent exposure to hypobaric hypoxia. *Wilderness Environ Med* 21, 325–331. <https://doi.org/10.1016/j.wem.2010.09.004>.

Fan C, Zhao Y, Yu Q, Yin W, Liu H, Lin J, Yang T, Fan M, Gesang L, Zhang J. 2016. Reversible Brain Abnormalities in People Without Signs of Mountain Sickness During High-Altitude Exposure. *Sci* 6: 33596. doi: 10.1038/srep33596.

Fayed N, Modrego PJ, Morales H. 2006. Evidence of brain damage after high-altitude climbing by means of magnetic resonance imaging. *Am J Med* 119: 168.e1–168.e6. doi: 10.1016/j.amjmed.2005.07.062.

Fellin T, Pascual O, Haydon PG. 2006. Astrocytes coordinate synaptic networks: balanced excitation and inhibition. *Physiology (Bethesda)* 21:208–215.

Finkel T. 2012. Signal transduction by mitochondrial oxidants. *J Biol Chem* 287, 4434–4440.

Fitzpatrick SF, Tambuwala MM, Bruning U, Schaible B, Scholz CC, Byrne A, O'Connor A, Gallagher WM, Lenihan CR, Garvey JF. 2011. An intact canonical NF-κB pathway is required for inflammatory gene expression in response to hypoxia. *J Immunol* 186, 1091–1096. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1002256>.

Fogwe LA, Reddy V, Mesfin FB. 2023. Neuroanatomy, Hippocampus. En: StatPearls [Internet], [20 julio 2023]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29489273/>

Forman HJ, Davies KJ, Ursini F. 2014. How do nutritional antioxidants really work: nucleophilic tone and para-hormesis versus free radical scavenging in vivo. *Free Radic Biol Med* 66:24–35. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.05.045

Forman HJ, Zhang H. 2021. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nat Rev Drug Discov* 20: 689–709.

Franco-Iborra S, Vila M, Perier C. 2018. Mitochondrial quality control in neurodegenerative diseases: focus on Parkinson's Disease and Huntington's Disease. *Front Neurosci* 12: 342. doi:10.3389/fnins.2018.00342.

Gao H, Han Z, Huang S, Bai R, Ge X, Chen F, Lei P. 2017 Intermittent hypoxia caused cognitive dysfunction relate to miRNAs dysregulation in hippocampus. *Behav Brain Res* 2335: 80-87. doi: 10.1016/j.bbr.2017.06.025.

García-Peñas JJ. 2009. Autism, epilepsy and temporal lobe pathology. *Rev Neurol* 27;48 Suppl 2: S35-45.

Garrido E, Segura R, Capdevila A, Pujol J, Javierre C, Ventura JL. 1996. Are Himalayan Sherpas better protected against brain damage associated with extreme altitude climbs? *Clin. Sci.* 90, 81–85. <https://doi.org/10.1042/cs0900081>.

Gassmann NN, van Elteren HA, Goos TG, Morales CR, Rivera-Ch M, Martin DS, Cabala Peralta P, Passano Del Carpio A, Aranibar Machaca S, Huicho L, Reiss IK, Gassmann M, de Jonge RC. 2016. Pregnancy at high altitude in the Andes leads to increased total vessel density in healthy newborns. *J Appl Physiol* 121(3):709-15. doi: 10.1152/jappphysiol.00561.2016.

Gatterer H, Villafuerte FC, Ulrich S, Bhandari SS, Keyes L, Burtscher M. 2024. Altitude illnesses. *Nat Rev Dis Primers* 10, 43. doi: 10.1038/s41572-024-00526-w

Genova ML, Ventura B, Giuliano G, Bovina C, Formiggini G, Parenti Castelli G, Lenaz G. 2001. The site of production of superoxide radical in mitochondrial Complex I is not a bound ubiquinone but presumably iron-sulfur cluster N2. *FEBS Lett.* 505, 364–368. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(01\)02850-2](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(01)02850-2).

Glowinski J, Iversen LL. 1966. Regional studies of catecholamines in the rat brain. I. The disposition of [3H]norepinephrine, [3H]dopamine and [3H]dopa in various regions of the brain. *J Neurochem* Aug;13(8):655-69. doi: 10.1111/j.1471-4159.1966.tb09873.x. PMID: 5950056.

Gong G, Yin L, Yuan L, Sui D, Sun Y, Fu H, Chen L, Wang X. 2018. Ganglioside GM1 protects against high altitude cerebral edema in rats by suppressing the oxidative

stress and inflammatory response via the PI3K/AKT-Nrf2 pathway. *Mol Immunol* 95, 91–98. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2018.02.001>.

Gross A, McDonnell JM, Korsmeyer SJ. 1999. BCL-2 family members and the mitochondria in apoptosis. *Genes Dev.* 13, 1899–1911. <https://doi.org/10.1101/gad.13.15.1899>.

Guo L, Zhu L. 2021. Multiple Roles of Peripheral Immune System in Modulating Ischemia/Hypoxia-Induced Neuroinflammation. *Front. Mol. Biosci.* 8, 752465. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.752465>.

Guo S, Bragina O, Xu Y, Cao Z, Chen H, Zhou B. 2008. Glucose up-regulates HIF-1 α expression in primary cortical neurons in response to hypoxia through maintaining cellular redox status. *J Neurochem* 105:1849–1860. doi: 10.1111/j.1471-4159.2008.05287.x

Guzy RD, Hoyos B, Robin E, Chen H, Liu L, Mansfield KD, Simon MC, Hammerling U, Schumacker PT. 2005. Mitochondrial complex III is required for hypoxia-induced ROS production and cellular oxygen sensing. *Cell Metab* 1: 401–408.

Guzy RD, Schumacker PT. 2006. Oxygen sensing by mitochondria at complex III: The paradox of increased reactive oxygen species during hypoxia. *Exp Physiol* 91, 807–819. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2006.033506>.

Hackett PH, Roach RC. 2001a. High-altitude illness. *N Engl J Med* 345(2):107-114. doi:10.1056/NEJM200107123450206

Hackett PH, Roach RC. 2001b. High altitude medicine. En: Auerbach PS, editor. *Wilderness medicine*. Philadelphia: Mosby. p 2-43.

Hackett PH. 1999. The cerebral etiology of high-altitude cerebral edema and acute mountain sickness. *Wilderness Environ Med* 10(2):97-109. doi:10.1580/1080-6032(1999)010[0097:tceoha]2.3.co;2

Hackett PH, Yarnell PR, Weiland DA, Reynard KB. 2019. Acute and Evolving MRI of High-Altitude Cerebral Edema: Microbleeds, Edema, and Pathophysiology. *AJNR Am J Neuroradiol* 40(3):464-469. <https://doi.org/10.3174/ajnr.a5897>

- Halliwell B, Gutteridge JM. 1984.** Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J* 219:1–14. doi: 10.1042/bj2190001
- Harris J, Jolivet R, Attwell D. 2012.** Synaptic energy use and supply. *Neuron* 75:762–777. doi: 10.1016/j.neuron.2012.08.019
- Harter CJL, Kavanagh GS, Smith JT. 2018.** The role of kisspeptin neurons in reproduction and metabolism. *J Endocrinol Sep*;238(3):R173-R183.
- Hartman-Ksycińska A, Kluz-Zawadzka J, Lewandowski B. 2016.** High altitude illness. *Przegl Epidemiol* 70(3):490-499.
- Hayashi R, Matsuzawa Y, Kubo K, Kobayashi T. 2005.** Effects of simulated high altitude on event-related potential (P300) and auditory brain-stem responses. *Clin Neurophysiol* 116, 1471–1476. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2005.02.020>.
- Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. 2005.** Glutathione transferases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 45:51–88. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095857
- Hernandez-Vasquez A, Vargas-Fernandez R, Rojas-Roque C, Gamboa-Unsihuay J.E. 2022.** Association between altitude and depression in Peru: An 8-year pooled analysis of population-based surveys. *J Affect Disord* 299: 536–544. doi: 10.1016/j.jad.2021.12.059.
- Himadri P, Kumari SS, Chitharanjan M, Dhananjay S. 2010.** Role of oxidative stress and inflammation in hypoxia-induced cerebral edema: A molecular approach. *High Alt Med Biol* 11, 231–244. <https://doi.org/10.1089/ham.2009.1057>.
- Hofmeyr R, Tölken G, De Decker R. 2017.** Acute high-altitude illness. *S Afr Med J* 107(7), 556-561. <https://doi.org/10.7196/samj.2017.v107i7.12612>
- Hota SK, Barhwal K, Singh SB, Ilavazhagan G. 2008.** Chronic hypobaric hypoxia induced apoptosis in CA1 region of hippocampus: A possible role of NMDAR mediated p75NTR upregulation. *Exp Neurol* 212, 5–13. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2008.01.030>.
- Hu S, Ide JS, Zhang S, Li CR. 2016.** The Right Superior Frontal Gyrus and Individual Variation in Proactive Control of Impulsive Response. *J Neurosci* 36 (50): 12688-12696.

Huan Y, Quan H, Jia B, Hao G, Shi Z, Zhao T, Yuan Y, Yuan F, Dong Y, Liang G. 2023. High-altitude cerebral hypoxia promotes mitochondrial dysfunction and apoptosis of mouse neurons. *Front Mol Neurosci* 16, 1216947. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2023.1216947>.

Huang CC, Lajevardi NS, Tammela O, Pastuszko A, Delivoria-Papadopoulos M, Wilson DF. 1994. Relationship of extracellular dopamine in striatum of newborn piglets to cortical oxygen pressure. *Neurochem Res* 19: 649–655. doi: 10.1007/BF00967702.

Huber RS, Kim TS, Kim N, Kuykendall MD, Sherwood SN, Renshaw PF, Kondo DG. 2018. Association between Altitude and Regional Variation of ADHD in Youth. *J Atten Disord* 22 :1299–1306. doi: 10.1177/1087054715577137.

Hultgren HN. 1997. High Altitude Medicine; Hultgren Publications: Stanford, CA, USA. 550p.

Humpton TJ, Vousden KH. 2016. Regulation of cellular metabolism and hypoxia by p53. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 6(7) doi: 10.1101/cshperspect.a026146.

Hwang L, Choi I, Kim S, Ko I, Shin M, Kim C, Kim S, Jin J, Chung J, Yi J. 2013. Dexmedetomidine ameliorates intracerebral hemorrhage-induced memory impairment by inhibiting apoptosis and enhancing brain-derived neurotrophic factor expression in the rat hippocampus". *International Journal of Molecular Medicine* 31: 1047-1056. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2013.1301>

Hwang S, Ham S, Lee SE, Lee Y, Lee GH. 2018. Hypoxia regulates the level of glutamic acid decarboxylase enzymes and interrupts inhibitory synapse stability in primary cultured neurons. *Neurotoxicology* 65:221–230. doi: 10.1016/j.neuro.2017.10.006.

Hyder F, Rothman D, Bennett MR. 2013. Cortical energy demands of signaling and nonsignaling components in brain are conserved across mammalian species and activity levels. *Proc Natl Acad Sci* 110:3549–3554. doi: 10.1073/pnas.1214912110

Institute for Altitude Medicine 2017. Telluride (CO): Institute for Altitude Medicine; c2016-2017. Altitude illness; [Internet]. [5 diciembre 2017]. Disponible en: <http://www.altitudemedicine.org/altitude-illness>.

Ionescu C, Ghidersa M, Ciobica A, Mavroudis I, Kazis D, Petridis FE, Gorgan DL, Balmus IM. 2025. Potential Correlation Between Molecular Biomarkers and Oxidative Stress in Traumatic Brain Injury. *Int. J. Mol. Sci.* 26, 3858. <https://doi.org/10.3390/ijms26083858>.

Iwasaki K, Zhang R, Zuckerman JH, Ogawa Y, Hansen LH, Levine BD. 2011. Impaired dynamic cerebral autoregulation at extreme high altitude even after acclimatization. *J Cereb Blood Flow Metab* 31:283–292. doi: 10.1038/jcbfm.2010.88.

Jaakkola P, Mole DR, Tian YM, Wilson MI, Gielbert J, Gaskell SJ. 2001. Targeting of HIF- α to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O₂-regulated prolyl hydroxylation. *Science* 292:468–472. doi: 10.1126/science.1059796

Jain K, Prasad D, Singh S, Kohli E. 2015. Hypobaric Hypoxia Imbalances Mitochondrial Dynamics in Rat Brain Hippocampus. *Neurol Res Int* 742059. doi.org/10.1155/2015/742059

Jiang Q, Geng X, Warren J, Eugene Paul Cosky E, Kaura S, Stone C, Li F, Ding Y. 2020. Hypoxia Inducible Factor-1 α (HIF-1 α) Mediates NLRP3 Inflammasome-Dependent-Pyroptotic and Apoptotic Cell Death Following Ischemic Stroke. *Neuroscience* 448: 126–139. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.09.036>

Jiang S, Fan F, Yang L, Chen K, Sun Z, Zhang Y, Cairang N, Wang X, Meng X. 2022. Salidroside attenuates high altitude hypobaric hypoxia-induced brain injury in mice via inhibiting NF- κ B/NLRP3 pathway. *Eur J Pharmacol* 925, 175015. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2022.175015>.

Jing L, Da Q, Zhang S, Zhang J, Ma H, Luo H. 2024. Nitronyl Nitroxide Ameliorates Hypobaric Hypoxia-Induced Cognitive Impairment in Mice by Suppressing the Oxidative Stress, Inflammatory Response and Apoptosis. *Neurochem Res* 49, 785–799. <https://doi.org/10.1007/s11064-023-04080-x>.

Kelley N, Jeltema D, Duan Y, He Y. 2019. The NLRP3 inflammasome: an overview of mechanisms of activation and regulation. *International journal of molecular sciences* 20(13): 3328.

Kennedy SG, Kandel ES, Cross TK, Hay N. 1999. Akt/Protein Kinase B Inhibits Cell Death by Preventing the Release of Cytochrome c from Mitochondria. *Mol Cell Biol* 19(8):5800–5810. doi:10.1128/mcb.19.8.5800.

Kious BM, Bakian A, Zhao J, Mickey B, Guille C, Renshaw P, Sen S. 2019. Altitude and risk of depression and anxiety: Findings from the intern health study. *Int Rev Psychiatry* 231: 637–645. doi: 10.1080/09540261.2019.1586324.

Kiselyov K, Muallem S, 2016. ROS and intracellular ion channels. *Cell Calcium* 60, 108–114.

Kishida KT, Klann E, 2007. Sources and targets of reactive oxygen species in synaptic plasticity and memory. *Antioxid Redox Signal* 9: 233–244.

Kizilirmak JM, Schott BH, Thuerich H, Sweeney-Reed CM, Richter A, Foltas-Schoofs K, Richardson-Klavehn A. 2019. Learning of novel semantic relationships via sudden comprehension is associated with a hippocampus-independent network. *Conscious Cogn* 69:113-132.

Koester-Hegmann C, Bengoetxea H, Kosenkov D, Thiersch M, Haider T, Gassmann M, Schneider Gasser EM. 2018. High-Altitude Cognitive Impairment Is Prevented by Enriched Environment Including Exercise via VEGF Signaling. *Front Cell Neurosci* 12:532. doi: 10.3389/fncel.2018.00532.

Kondo DG, Forrest LN, Shi X, Sung YH, Hellem TL, Huber RS, Renshaw PF. 2016. Creatine target engagement with brain bioenergetics: A dose-ranging phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy study of adolescent females with SSRI-resistant depression. *Amino Acids* 48: 1941–1954. doi: 10.1007/s00726-016-2194-3.

Kottke R, Pichler Hefti J, Rummel C, Hauf M, Hefti U, Merz TM. 2015. Morphological Brain Changes after Climbing to Extreme Altitudes--A Prospective Cohort Study. *PLoS ONE* 10, e0141097. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141097>.

Kurtzman RA, Caruso JL. 2018. High-Altitude Illness Death Investigation. *Acad Forensic Pathol* 8(1):83-97. doi:10.23907/2018.006

Kwon HS, Koh SH. 2020. Neuroinflammation in neurodegenerative disorders: the roles of microglia and astrocytes. *Translational neurodegeneration* 9(1): 42.

Lawley JS, Levine BD, Williams MA, Malm J, Eklund A, Polaner D, Subudhi A, Hackett P, Roach R. 2016. Cerebral spinal fluid dynamics: effect of hypoxia and implications for high-altitude illness. *J Appl Physiol* 120:251-262

LeBel C, Ali S, McKee M, Bondy S. 1990. Organometal-induced increases in oxygen radical species: The potential of 2,7-dichlorofluorescein diacetate as an index of neurotoxic damage. *Toxicol Appl Pharmacol* 104: 17–24. doi: 10.1016/0041-008X(90)90278-3.

Leveque C, Mrakic Sposta S, Theunissen S, Germonpré P, Lambrechts K, Vezzoli A, Gussoni M, Levenez M, Lafère P, Guerrero F. 2023. Oxidative Stress Response Kinetics after 60 Minutes at Different Levels (10% or 15%) of Normobaric Hypoxia Exposure. *Int J Mol Sci* 24, 10188. <https://doi.org/10.3390/ijms241210188>.

Levrant J, Iwase H, Shao ZH, Vanden Hoek TL, Schumacker PT. 2003. Cell death during ischemia: relationship to mitochondrial depolarization and ROS generation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 284: H549–H558.

Li P, Nijhawan D, Budihardjo I, Srinivasula SM, Ahmad M, Alnemri ES, Wang X. 1997. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell* 91, 479–489. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80434-1](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80434-1).

Li Z, Zhang J, Zhang X, Jin Q, Zheng X, Mo L, Da Z. 2025. Oxygen metabolism abnormalities and high-altitude cerebral edema. *Front. Immunol.* 16, 1555910. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1555910>.

Liochev SI. 2013. Reactive oxygen species and the free radical theory of aging. *Free Radic Biol Med* 60:1–4. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.02.011

Liu J, Pei C, Jia N, Han Y, Zhao S, Shen Z, Huang D, Chen Q, Wu Y, Shi S. 2025. Preconditioning with Ginsenoside Rg3 mitigates cardiac injury induced by high-altitude hypobaric hypoxia exposure in mice by suppressing ferroptosis through

inhibition of the RhoA/ROCK signaling pathway. *J Ethnopharmacol* 337 Pt 2, 118861. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.118861>.

Lombardi C, Meriggi P, Agostoni P, Faini A, Bilo G, Revera M, Caldara G, Di Rienzo M, Castiglioni P, Maurizio B, Gregorini F, Mancina G, Parati G. 2013. High-altitude hypoxia and periodic breathing during sleep: gender-related differences. *J Sleep Res* 22(3): 322-30. doi: 10.1111/jsr.12012.

Lovinger DM. 2008. Communication networks in the brain: neurons, receptors, neurotransmitters, and alcohol. *Alcohol Res Health* 31(3): 196-214.

Luks AM. 2015. Physiology in medicine: a physiologic approach to prevention and treatment of Acute high-altitude illnesses. *J Appl Physiol* 118:509–519.

Lum J, Bui T, Gruber M, Gordan J, DeBerardinis R, Covello K, Simon M, Thompson C. 2007. The transcription factor HIF-1 α plays a critical role in the growth factor-dependent regulation of both aerobic and anaerobic glycolysis. *Genes Dev* 21:1037–1049.

Lushchak VI, Storey KB. 2021. Oxidative stress concept updated: Definitions, classifications, and regulatory pathways implicated. *EXCLI J.* 20, 956–967. <https://doi.org/10.17179/excli2021-3596>.

Ma H, Zhang D, Li X, Ma H, Wang N, Wang Y. 2019. Long-term exposure to high altitude attenuates verbal and spatial working memory: Evidence from an event-related potential study. *Brain Behav* 9: e01256. doi: 10.1002/brb3.1256.

Ma S, Mifflin SW, Cunningham JT, Morilak DA. 2008. Chronic intermittent hypoxia sensitizes acute hypothalamic-pituitary-adrenal stress reactivity and Fos induction in the rat locus coeruleus in response to subsequent immobilization stress. *Neuroscience* 154: 1639–1647. doi: 10.1016/j.neuroscience.2008.04.068.

Maggiorini M, Mélot C, Pierre S, Pfeiffer F, Greve I, Sartori C, Lepori M, Hause M, Scherrer U, Naeij, R. 2001. High-altitude pulmonary edema is initially caused by an increase in capillary pressure. *Circulation* 103(16):2078-2083. doi:10.1161/01.cir.103.16.2078

- Maiti P, Singh S, Mallick B, Muthuraju S, Ilavazhagan G. 2008.** High altitude memory impairment is due to neuronal apoptosis in hippocampus, cortex and striatum. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 36: 227–238.
- Maiti P, Singh S, Muthuraju S, Veleri S, Ilavazhagan G. 2007.** Hypobaric hypoxia damages the hippocampal pyramidal neurons in the rat brain. *Brain Research* 1175: 1–9.
- Maiti P, Singh S, Sharma A, Muthuraju S, Banerjee P, Ilavazhagan G. 2006.** Hypobaric hypoxia induces oxidative stress in rat brain. *Neurochemistry International* 49: 709–716.
- Mallet RT, Burtscher J, Pialoux V, Pasha Q, Ahmad Y, Millet GP, Burtscher M. 2023.** Molecular Mechanisms of High-Altitude Acclimatization. *Int J Mol Sci* 24:1968. doi: 10.3390/ijms24021698.
- Manzanero S, Santro T, Arumugam T. 2013.** Neuronal oxidative stress in acute ischemic stroke: sources and contribution to cell injury. *Neurochem Int* 62:712–718.
- Marchi S, Giorgi C, Suski JM, Agnoletto C, Bononi A, Bonora M, De Marchi, E, Missiroli S, Patergnani S, Poletti F, Rimessi A, Duszynski J, Wieckowski MR, Pinton P. 2012.** Mitochondria-ros crosstalk in the control of cell death and aging. *J Signal Transduct* 2012: 329635.
- Marti HH, Wenger RH, Rivas LA, Straumann U, Oigicaylioglu M, Volker H, Yonekawa Y, Bauer C, Gassmann M. 1996.** Erythropoietin gene expression in human, monkey and murine brain. *Eur J Neurosci* 8(4):666–676. doi:10.1111/j.1460-9568.1996.tb01252.x.
- Martí-Fàbregas J, Romaguera-Ros M, Gómez-Pinedo U, Martínez-Ramírez S, Jiménez-Xarrié E, Marín R. 2010.** Proliferation in the human ipsilateral subventricular zone after ischemic stroke. *Neurology* 74:357–365. doi: 10.1212/WNL.0b013e3181cbccec
- Martinez MC, Andriantsitohaina R. 2009.** Reactive nitrogen species: molecular mechanisms and potential significance in health and disease. *Antioxid Redox Signal* 11: 669–702.
- Mathai A, Smith Y. 2011.** The corticostriatal and corticosubthalamic pathways: two entries, one target. So what? *Front Syst Neurosci* 5: 64. doi: 10.3389/fnsys.2011.00064.

McGarry T, Biniecka M, Veale DJ, Fearon, U. 2018. Hypoxia, oxidative stress and inflammation. *Free Radic Biol Med* 125, 15–24.

Mennerich D, Kellokumpu S, Kietzmann T. 2019. Hypoxia and reactive oxygen species as modulators of endoplasmic reticulum and golgi homeostasis. *Antioxid Redox Signal* 30: 113–137.

Merz TM, Treyer V, Hefti U, Spengler CM, Schwarz U, Buck A, Maggiorini M. 2006. Changes in cerebral glucose metabolism after an expedition to high altitudes. *High Alt Med Biol* 7: 28–38. doi: 10.1089/ham.2006.7.28.

Mishra A, Bandopadhyay R, Singh PK, Mishra PS, Sharma N, Khurana N. 2021. Neuroinflammation in neurological disorders: pharmacotherapeutic targets from bench to bedside. *Metabolic Brain Disease* 36(7): 1591-1626.

Mishra A, Reynolds JP, Chen Y, Gourine AV, Rusakov DA, Attwell D. 2016. Astrocytes mediate neurovascular signaling to capillary pericytes but not to arterioles. *Nat Neurosci* 19: 1619–1627. doi: 10.1038/nn.4428

Mitani A, Kadoya F, Kataok, K. 1990. Distribution of hypoxia induced calcium accumulation in gerbil hippocampal slices. *Neurosci Lett* 120:42–45.

Mukandala G, Tynan R, Lanigan S, O'Connor JJ. 2016. The Effects of Hypoxia and Inflammation on Synaptic Signaling in the CNS. *Brain Sci.* 6, 6. <https://doi.org/10.3390/brainsci6010006>.

Muraoka K, Shimizu K, Sun X, Zhang YK, Tani T, Hashimoto T, Yagi M, Miyazaki I, Yamamoto K. 1997. Hypoxia, but not reoxygenation, induces interleukin 6 gene expression through NF-kappa B activation. *Transplantation* 63, 466–470. <https://doi.org/10.1097/00007890-199702150-00023>.

Nanduri J, Vaddi DR, Khan SA, Wang N, Makarenko V, Semenza GL, Prabhakar NR. 2015. HIF-1alpha activation by intermittent hypoxia requires NADPH oxidase stimulation by xanthine oxidase. *PLoS One* 10: e0119762.

Niizuma K, Yoshioka H, Chen H, Kim G, Jung J, Katsu M, Okami N, Chan P. 2010. Mitochondrial and apoptotic neuronal death signaling pathways in cerebral ischemia. *Biochim Biophys Acta* 1802: 92–99.

Nisimoto Y, Diebold BA, Cosentino-Gomes D, Lambeth JD. 2014. Nox4: a hydrogen peroxide-generating oxygen sensor. *Biochemistry* 53, 5111–5120.

Obeso JA, Rodríguez-Oroz MC, Benitez-Temino B, Blesa FJ, Guridi J, Marin C, Rodríguez M. 2008. Functional organization of the basal ganglia: therapeutic implications for Parkinson's disease. *Mov Disord* 23 Suppl 3: S548-59.

Oficina Federal de Meteorología y Climatología MeteoSwiss. 2025. Decreases in temperatura with altitude. [Internet]. Disponible en: <https://www.meteoswiss.admin.ch/weather/weather-and-climate-from-a-to-z/temperature/decreases-in-temperature-with-altitude.html>

Ostrowski RP, Zhang JH. 2020. The insights into molecular pathways of hypoxia-inducible factor in the brain. *J Neurosci Res* 98, 57–76. <https://doi.org/10.1002/jnr.24366>.

Panov A, Dikalov S, Shalbuyeva N, Hemendinger R, Greenamyre JT, Rosenfeld J. 2007. Species- and tissue-specific relationships between mitochondrial permeability transition and generation of ROS in brain and liver mitochondria of rats and mice. *Am J Phys Cell Phys* 292: C708–C718.

Paralika SJ, Paralika JH. 2010. High-altitude medicine. *Indian J Occup Environ Med* 14:6-12.

Pathak D, Shields LY, Mendelsohn BA, Haddad D, Lin W, Gerencser AA. 2015. The role of mitochondrially derived ATP in synaptic vesicle recycling. *J Biol Chem* 290:22325–22336. doi: 10.1074/jbc.M115.656405

Patton AP, Hastings MH. 2018. The suprachiasmatic nucleus. *Curr Biol* 15: R816-R822.

Pell VR, Chouchani ET, Frezza C, Murphy MP, Krieg T. 2016. Succinate metabolism: a new therapeutic target for myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 111: 134–141.

Pena E, El Alam S, Siques P, Brito J. 2022. Oxidative Stress and Diseases Associated with High-Altitude Exposure. *Antioxidants* 11, 267. <https://doi.org/10.3390/antiox11020267>.

Peppiatt CM, Howarth C, Mobbs P, Attwell D. 2006. Bidirectional control of CNS capillary diameter by pericytes. *Nature* 443: 700–704. doi: 10.1038/nature05193

Perry JJ, Shin DS, Getzoff ED, Tainer JA. 2010. The structural biochemistry of the superoxide dismutases. *Biochim. Biophys. Acta Proteins Proteomics* 1804:245–262. doi: 10.1016/j.bbapap.2009.11.004

Pitychoutis PM, Dalla C, Sideris AC, Tsonis PA, Papadopoulou-Daifoti Z. 2012. 5-HT(1A), 5-HT(2A), and 5-HT(2C) receptor mRNA modulation by antidepressant treatment in the chronic mild stress model of depression: Sex differences exposed. *Neuroscience* 210: 152–167. doi: 10.1016/j.neuroscience.2012.03.003.

Preetha Rani MR, Anupama N, Sreelekshmi M, Raghu KG. 2018. Chlorogenic acid attenuates glucotoxicity in H9c2 cells via inhibition of glycation and PKC alpha upregulation and safeguarding innate antioxidant status, *Biomed. Pharmacother* 100, 467–477.

Pu X, Lin X, Duan X, Wang J, Shang J, Yun H, Chen Z. 2020. Oxidative and Endoplasmic Reticulum Stress Responses to Chronic High-Altitude Exposure During the Development of High-Altitude Pulmonary Hypertension. *High Alt Med Biol* 21, 378–387. <https://doi.org/10.1089/ham.2019.0143>.

Puchowicz MA, Parveen K, Sethuraman A, Ishrat T, Xu K, LaManna J. 2023. Pro-survival Phenotype of HIF-1α: Neuroprotection Through Inflammatory Mechanisms. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1438, 33–36. https://doi.org/10.1007/978-3-031-42003-0_6.

Pun M, Guadagni V, Bettauer KM, Drogos LL, Aitken J, Hartmann SE, Furian M, Muralt L, Lichtblau M, Bader PR, Rawling JM, Protzner AB, Ulrich S, Bloch KE, Giesbrecht B, Poulin MJ. 2018. Effects on Cognitive Functioning of Acute, Subacute and Repeated Exposures to High Altitude. *Front Physiol* 9:1131. doi: 10.3389/fphys.01131. PMID: 30246787; PMCID: PMC6111975.

Purushothaman J, Suryakuma, G, Shukla D, Malhotra AS, Kasiganesan H, Kumar R, Sawhney RC, Chami A. 2008. Modulatory effects of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) in hypobaric hypoxia induced cerebral vascular injury. *Brain Res Bull* 77, 246–252. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2008.08.026>.

Purushothaman J, Suryakumar G, Shukla D, Jayamurthy H, Kasiganesan H, Kumar R, Sawhney RC. 2011. Modulation of Hypoxia-Induced Pulmonary Vascular Leakage in Rats by Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *Evid.-Based Complement Altern Med* 574524. <https://doi.org/10.1093/ecam/nep199>.

Qin C, Li J, Tang K. 2018. The Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus: Development, Function, and Human Diseases. *Endocrinology* 59(9) :3458-3472.

Ramamoorthy P, Shi S. 2014. Ischemia induces different levels of hypoxia inducible factor-1 α protein expression in interneurons and pyramidal neurons. *Acta Neuropathol Commun* 2:51. doi:10.1186/2051-5960-2-51

Rangaraju V, Calloway N, Ryan T. 2014. Activity-driven local ATP synthesis is required for synaptic function. *Cell* 156:825–835. doi: 10.1016/j. cell.2013.12.042

Rhee SG, Chae HZ, Kim K. 2005. Peroxiredoxins: a historical overview and speculative preview of novel mechanisms and emerging concepts in cell signaling. *Free Radic Biol Med* 38:1543–1552. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.02.026

Richardson C, Hogan AM, Bucks RS, Baya A, Virues-Ortega J, Holloway J.W, Rose-Zerilli M, Palmer LJ, Webster RJ, Kirkham FJ, Baldeweg T. 2011. Neurophysiological evidence for cognitive and brain functional adaptation in adolescents living at high altitude. *Clin Neurophysiol* 122:1726–1734. doi: 10.1016/j.clinph.2011.02.001.

Roach RC, Hackett PH, Oelz O. 2018. The 2018 lake Louise acute mountain sickness score. *High Alt Med Biol* 19:4–6

Rojas-Camayo J, Mejia CR, Callacondo D, Dawson JA, Posso M, Galvan CA, Davila-Arango N, Bravo EA, Loescher VY, Padilla-Deza MM, Rojas-Valero N, Velasquez-Chavez G, Clemente J, Alva-Lozada G, Quispe-Mauricio A, Bardalez, Subhi R. 2018. Reference values for oxygen saturation from sea level to the highest human habitation in the Andes in acclimatised persons. *Thorax* 73:776–778. doi: 10.1136/thoraxjnl-2017-210598.

Rolett EL, Azzawi A, Liu KJ, Yongbi MN, Swartz HM, Dunn JF. 2000. Critical oxygen tension in rat brain: a combined ³¹P-NMR and EPR oximetry study. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 279:R9–R16. doi: 10.1152/ajpregu.2000.279.1.r9

- Rutherford JC, Bird AJ. 2004.** Metal-responsive transcription factors that regulate iron, zinc, and copper homeostasis in eukaryotic cells. *Eukaryot Cell* 3:1–13. doi: 10.1128/EC.3.1.1-13.2004
- Sagoo RS, Hutchinson CE, Wright A. 2017.** Magnetic resonance investigation into the mechanisms involved in the development of high-altitude cerebral edema. *J Cereb Blood Flow Metab* 37:319–331.
- Sanchez PE, Fares RP, Risso J, Bonnet C, Bouvard S, Morales A, Pequignot J, Baulieu E, Levine RA, Bezin L. 2009.** Optimal neuroprotection by erythropoietin requires. *Proc Natl Acad Sci* 106(24): 1–6.
- Sarkar S, Banerjee PK, Selvamurthy W. 2003.** High altitude hypoxia: An intricate interplay of oxygen responsive macroevents and micromolecules. *Mol Cell Biochem* 253, 287–305. <https://doi.org/10.1023/a:1026080320034>.
- Schafer FQ, Buettner GR. 2001.** Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radic Biol Med* 30:1191–1212. doi: 10.1016/s0891-5849(01)00480-4
- Schmedtje JF, Ji YS, Liu WL, DuBois RN, Runge MS. 1997.** Hypoxia induces cyclooxygenase-2 via the NF-kappaB p65 transcription factor in human vascular endothelial cells. *J. Biol. Chem.* 272, 601–608. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.1.601>.
- Schoch HJ, Fischer S, Marti HH. 2002.** Hypoxia-induced vascular endothelial growth factor expression causes vascular leakage in the brain. *Brain* 125:2549–2557
- Schoene RB, Hackett PH, Hornbein TF. 2000.** High altitude. En: Murray JF, Nadel JA, Maso RJ, Boushey HA eds. *Textbook of respiratory medicine*. 3^a ed. Philadelphia: WB Saunders. p1915-1950.
- Schönenberger MJ, Kovacs WJ. 2015.** Hypoxia signaling pathways: Modulators of oxygen-related organelles. *Front Cell Dev Biol* 3, 42. <https://doi.org/10.3389/fcell.2015.00042>.
- Scialo F, Fernandez-Ayala DJ, Sanz A. 2017.** Role of mitochondrial reverse electron transport in ROS signaling: potential roles in health and disease. *Front Physiol* 8, 428.
- Semenza GL. 1994.** Regulation of erythropoietin production. New insights into molecular mechanisms of oxygen homeostasis. *Hematol Oncol Clin North Am* 8(5):863-884.

Sen T, Sen N, Tripathy G, Chatterjee U, Chakraborty S. 2006. Lipid peroxidation associated cardiolipin loss and membrane depolarization in rat brain mitochondria. *Neurochem Int* 49, 20–27.

Shi H, Li P, Zhou H, Nie Z, Zhang J, Sui X, Guo J, Wang Y, Wang L. 2022. Dynamic cerebral blood flow changes with FOXOs stimulation are involved in neuronal damage associated with high-altitude cerebral edema in mice. *Brain Res* 1790, 147987. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2022.147987>.

Shi H, Liu KJ. 2006. Effects of glucose concentration on redox status in rat primary cortical neurons under hypoxia. *Neurosci Lett* 410:57–61. doi: 10.1016/j.neulet.2006.09.066

Shi XF, Carlson PJ, Kim TS, Sung YH, Hellem TL, Fiedler KK, Kim SE, Glaeser B, Wang K, Zuo CS, Jeong EK, Renshaw PF, Kondo DG. 2014. Effect of altitude on brain intracellular pH and inorganic phosphate levels. *Psychiatry Res* 30222(3): 149-56. doi: 10.1016/j.psychresns.2014.04.002.

Shi Z, Zhang J, Ma H, Jing L. 2024. Network pharmacology and in vivo experimental studies reveal the protective effects of 6-hydroxyphenylacetate against hypobaric hypoxia-induced brain injury. *Heliyon* 10, e36241. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e36241>.

Shukitt-Hale B, Stillman MJ, Welch DI, Levy A, Devine JA, Lieberman HR. 1994. Hypobaric hypoxia impairs spatial memory in an elevation-dependent fashion. *Behav Neural Biol* 62: 244–252. doi: 10.1016/S0163-1047(05)80023-8.

Shukitt-Hale B, Lieberman HR. 1996. The Effect of Altitude on Cognitive Performance and Mood States. Vol. 22 National Academies Press (US), Institute of Medicine (US) Committee on Military Nutrition Research; Washington, DC, USA.

Shushanyan R, Grigoryan A, Abgaryan T, Karapetyan A. 2023. Histological and cytochemical analysis of the brain under conditions of hypobaric hypoxia-induced oxygen deficiency in albino rats. *Acta Histochem* 125, 152114. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2023.152114>.

Sies H. 2021. Oxidative eustress: on constant alert for redox homeostasis. *Redox Biol* 41: 101867.

Sies H, Belousov VV, Chandel NS, Davies MJ, Jones DP, Mann GE, Murphy MP, Yamamoto M, Winterbourn C. 2022. Defining roles of specific reactive oxygen species (ROS) in cell biology and physiology. *Nat Rev Mol Cell Biol* <https://doi.org/10.1038/s41580-022-00456-z>.

Sims KD, Robinson MB. 1999. Expression patterns and regulation of glutamate transporters in the developing and adult nervous system. *Crit Rev Neurobiol* 13:169–197.

Soliz J, Joseph V, Soulage C, Becskei C, Vogel J, Pequignot JM, Ogunshola O, Gassmann M. 2005. Erythropoietin regulates hypoxic ventilation in mice by interacting with brainstem and carotid bodies. *J Physiol* 568: 559–571. doi: 10.1113/jphysiol.2005.093328.

Starkov AA, Andreyev AY, Zhang SF, Starkova NN, Korneeva M, Syromyatnikov M, Popov VN, 2014. Scavenging of H₂O₂ by mouse brain mitochondria. *J Bioenerg Biomembr* 46: 471–477.

Stiles J, Jernigan TL. 2010. The basics of brain development. *Neuropsychol Rev.* 20(4):327-48.

Stream JO, Grissom CK. 2008. Update on high-altitude pulmonary edema: pathogenesis, prevention, and treatment. *Wilderness Environ Med* 19(4):293-303. doi:10.1580/07-WEME-REV-173.1

Swanson LW, Lichtman JW. 2016. From Cajal to Connectome and Beyond. *Annu Rev Neurosci* 39:197-216.

Swenson ER, Maggiorini M, Mongovin S, Gibbs JS, Greve I, Mairbäurl H, Bärtsch P. 2002. Pathogenesis of high-altitude pulmonary edema: inflammation is not an etiologic factor. *JAMA* 287(17):2228-2235. doi:10.1001/jama.287.17.2228

Terraneo L, Samaja M. 2017. Comparative response of brain to chronic hypoxia and hyperoxia. *Int J Mol Sci* 18(9). doi:10.3390/ijms18091914.

Tsai YW, Yang YR, Sun SH, Liang KC, Wang RY. 2013. Post ischemia intermittent hypoxia induces hippocampal neurogenesis and synaptic alterations and alleviates long-term memory impairment. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 33(5): 764–773. doi: 10.1038/jcbfm.2013.15.

Turrens JF, Freeman BA, Levitt JG, Crapo JD, 1982. The effect of hyperoxia on superoxide production by lung submitochondrial particles. Arch Biochem Biophys 217: 401–410.

Turrens JF. 1997. Superoxide production by the mitochondrial respiratory chain. Biosci Rep 17, 3–8. <https://doi.org/10.1023/a:1027374931887>.

Ucros S, Castro-Guevara JA, Hill CM, Castro-Rodriguez JA. 2021b. Breathing Patterns and Oxygenation Saturation during Sleep in Children Habitually Living at High Altitude in the Andes: A Systematic Review. Front. Pediatr. 9: 798310. doi: 10.3389/fped.2021.798310.

Ucros S, Granados C, Hill C, Castro-Rodriguez JA, Ospina JC. 2021a. Normal values for respiratory sleep polygraphy in children aged 4 to 9 years at 2560 m above sea level. J. Sleep. Res. 30: e13341. doi: 10.1111/jsr.13341.

Ucros S, Granados CM, Castro-Rodriguez JA, Hill CM. 2020. Oxygen Saturation in Childhood at High Altitude: A Systematic Review. High Alt Med Biol 21: 114–125. doi: 10.1089/ham.2019.0077.

Vats P, Sagar N, Singh TP, Banerjee M. 2015. Association of superoxide dismutases (SOD1 and SOD2) and glutathione peroxidase 1 (GPx1) gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus, Free Radic Res 49: 17–24.

Vestergaard MB, Lindberg U, Aachmann-Andersen NJ, Lisbjerg K, Christensen SJ, Law I, Rasmussen P, Olsen N V., Larsson HBW. 2016. Acute hypoxia increases the cerebral metabolic rate-a magnetic resonance imaging study. J Cereb Blood Flow Metab 36(6): 1046–1058. doi:10.1177/0271678X15606460.

Vignais PV. 2002. The superoxide-generating NADPH oxidase: structural aspects and activation mechanism. Cell Mol Life Sci 59: 1428–1459.

Virues-Ortega J, Bucks R, Kirkham FJ, Baldeweg T, Baya-Botti A, Hogan AM. 2011. Bolivian Children Living at Altitude project Changing patterns of neuropsychological functioning in children living at high altitude above and below 4000 m: A report from the Bolivian Children Living at Altitude (BoCLA) study. Dev Sci 14:1185–1193. doi: 10.1111/j.1467-7687.2011.01064.x.

Wagenführ L, Meyer AK, Braunschweig L, Marrone L, Storch A. 2015. Brain oxygen tension controls the expansion of outer subventricular zone-like basal progenitors in the developing mouse brain. *Development* 142: 2904–2915. doi: 10.1242/dev.121939

Wang Q, Nie P, Hou Y, Wang Y. 2020. Purification, biochemical characterization and DNA protection against oxidative damage of a novel recombinant superoxide dismutase from psychrophilic bacterium *Halomonas* sp. ANT108, *Protein Expr Purif* 173: 105661.

Wang R, Ma S, Yang J, Luo K, Qian Q, Pan J, Liang K, Wang Y, Gao Y, Li M. 2024. Sodium Hydrosulfide Protects Rats from Hypobaric-Hypoxia-Induced Acute Lung Injury. *Int J Mol Sci* 25, 10734. <https://doi.org/10.3390/ijms251910734>.

Wang Y, Ma H, Fu S, Guo S, Yang X, Luo P, Han B. 2014. Long-Term Exposure to High Altitude Affects Voluntary Spatial Attention at Early and Late Processing Stages. *Sci Rep* 4:4443. doi: 10.1038/srep04443.

Wang YP, Yang YZ, Ma L, Zhao YX, Ge RL. 2013. Effect of different altitudes on telomere length of rat peripheral blood leukocyte. *Sheng Li Xue Bao Acta Physiol Sin* 65, 540–546.

Watts ME, Pocock R, Claudianos C. 2018. Brain Energy and Oxygen Metabolism: Emerging Role in Normal Function and Disease. *Front Mol Neurosci* 11: 216. doi: 10.3389/fnmol.2018.00216.

Waypa GB, Schumacker P. 2002. O₂ sensing in hypoxic pulmonary vasoconstriction: The mitochondrial door re-opens. *Respir Physiol Neurobiol* 132, 81–91. [https://doi.org/10.1016/s1569-9048\(02\)00051-4](https://doi.org/10.1016/s1569-9048(02)00051-4).

Wehby GL. 2013. Living on higher ground reduces child neurodevelopment-evidence from South America. *J Pediatr* 162:606–611.e1. doi: 10.1016/j.jpeds.2012.09.011.

Wei R, Zhang R, Xie Y, Shen L, Chen F. 2015. Hydrogen suppresses hypoxia/reoxygenation-induced cell death in hippocampal neurons through reducing oxidative stress. *Cellular Physiology and Biochemistry* 36(2): 585–598. doi: 10.1159/000430122.

Wei YC, Wang SR, Jiao ZL, Zhang W, Lin JK, Li XY, Li SS, Zhang X, Xu XH. 2018. Medial preoptic area in mice is capable of mediating sexually dimorphic behaviors regardless of gender. *Nat Commun* 18;9(1):279.

West AP, Shadel GS, Ghosh S, 2011. Mitochondria in innate immune responses. *Nat Rev Immunol* 11: 389–402.

Whiting AC, Oh MY, Whiting DM. 2018. Deep brain stimulation for appetite disorders: a review. *Neurosurg Focus* 45(2): E9.

Wilson DF, Rumsey WL, Green TJ, Vanderkooi JM. 1988. The oxygen dependence of mitochondrial oxidative phosphorylation measured by a new optical method for measuring oxygen concentration. *J Biol Chem* 263: 2712–2718.

Wilson MH, Davagnanam I, Holland G. 2013. Cerebral venous system and anatomical predisposition to high-altitude headache. *Ann Neurol* 73:381–389.

Woods P, Alcock J. 2021. High-altitude pulmonary edema. *Evol Med Public Health* 9:118–119. doi.org/10.1093/emph/eoaa052

Yan X. 2014. Cognitive impairments at high altitudes and adaptation. *High Alt Med Biol* 15: 141–145. doi: 10.1089/ham.2014.1009.

Yang X, Li J, Ma Y, Dong X, Qu J, Liang F, Liu J. 2024. Curcumin-mediated enhancement of lung barrier function in rats with high-altitude-associated acute lung injury via inhibition of inflammatory response. *Respir Res* 25, 354. <https://doi.org/10.1186/s12931-024-02975-z>.

Yarnell PR, Heit J, Hackett PH. 2000. High-altitude cerebral edema (HACE): the Denver/Front Range experience. *Semin Neurol* 20:209–217

Yin J, Wang Y, Li B, Hu X, Ma Y, Zhang C, Ha X, Wang L, Pan Y. 2025. Hypobaric Hypoxia Increased Autophagy and Apoptosis in PC12 Rat Pheochromocytoma Cells More Than Normobaric Hypoxia. *High Alt Med Biol* 26, 301–307. <https://doi.org/10.1089/ham.2024.0041>.

Young CB, Reddy V, Sonne J. Neuroanatomy, Basal Ganglia. 2023. En: StatPearls [Internet], [24 julio 2023]. Treasure Island (FL). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30725826/>

- Zhang H, Zhang X, Liu Z, Mei Y, Liu Y, Wei X, Xiao C, Gao Y, Ma Z. 2023.** Time-course effects and mechanisms of hypobaric hypoxia on nervous system in mice. *Neurosci Lett* 801, 137163. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2023.137163>.
- Zhang J, Ney PA. 2009.** Role of BNIP3 and NIX in cell death, autophagy, and mitophagy. *Cell Death Differ*. 16, 939–946. <https://doi.org/10.1038/cdd.2009.16>.
- Zhang K, Zhou Y, Zhao T, Wu L, Huang X, Wu K, Xu L, Li D, Liu S, Zhao Y. 2015.** Reduced Cerebral Oxygen Content in the DG and SVZ In Situ Promotes Neurogenesis in the Adult Rat Brain In Vivo. *PLoS ONE* 10, e0140035. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140035>.
- Zhang X, Zhang J. 2022.** The human brain in a high altitude natural environment: A review. *Front Hum Neurosci* 16: 915995. doi: 10.3389/fnhum.2022.915995.
- Zhang ZA, Sun Y, Yuan Z, Wang L, Dong Q, Zhou Y, Zheng G, Aschner M, Zou Y, Luo W. 2022.** Insight into the Effects of High-Altitude Hypoxic Exposure on Learning and Memory. *Oxidative Med. Cell. Longev.* 2022, 4163188. <https://doi.org/10.1155/2022/4163188>.
- Zhu X, Liu H, Wang D, Guan R, Zou Y, Li M, Zhang J, Chen J. 2023.** NLRP3 deficiency protects against hypobaric hypoxia induced neuroinflammation and cognitive dysfunction, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 255, 114828. ISSN 0147- 6513. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.114828>.
- Zhuravin IA, Dubrovskaya NM, Vasilev DS, Postnikova TY, Zaitsev AV. 2019.** Prenatal hypoxia produces memory deficits associated with impairment of long-term synaptic plasticity in young rats. *Neurobiology of Learning and Memory* 164: 107066. doi: 10.1016/j.nlm.2019.107066.
- Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. 2014.** Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. *Physiol Rev* 94: 909– 950.