Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado
Facultad de Medicina
Unidad de Posgrado

Inducción génica del complejo inflamasoma en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental de gran altitud (4 200 m.s.n.m.)

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Fisiología

AUTOR

Roger Carlos CALDERON ROMERO

ASESOR

Dr. Boris Antonio LIRA MEJÍA

Lima, Perú

2026



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

Calderon R. Inducción génica del complejo inflamasoma en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental de gran altitud (4 200 m.s.n.m.) [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Unidad de Posgrado; 2026.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Roger Carlos Calderon Romero
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	45193055
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-2165-820X
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Boris Antonio Lira Mejía
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	10131501
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-1497-3068
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Elydia Cornelia Mujica Albán
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07769567
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	José del Carmen Aliaga Arauco
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07574720
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Alberto Córdova Aguilar
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	42875811
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. Proyectos de Investigación con Financiamiento para Grupos de Investigación. Convocatoria 2024. Resolución Rectoral N.° 004305-2024-R/UNMSM, código de proyecto A24080221-PCONFIGI. Perú. Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica. Programa Nacional de Investigación Científica y Estudios Avanzados (PROCIENCIA). Concurso E073-2024-01: «Tesis de Pregrado y Posgrado en Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica». Resolución de Dirección Ejecutiva N.° 083-2024-PROCIENCIA-DE.
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	2024-2025
URL de disciplinas OCDE	Fisiología https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.00

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

FACULTAD DE MEDICINA

Vicedecanato de Investigación y Postgrado

Sección Maestría

ACTA DE GRADO DE MAGÍSTER

*En la ciudad de Lima, a los 14 días del mes de octubre del año dos mil veintiséis siendo las 11:00 horas, bajo la presidencia de la Dra. Elydia Cornelia Mujica Albán con la asistencia de los Profesores: Dr. José del Carmen Aliaga Arauco (Miembro), Dr. Alberto Córdova Aguilar (Miembro) y el Dr. Boris Antonio Lira Mejía (Asesor); el postulante al Grado de Magíster en Fisiología, Bachiller en Medicina Veterinaria, procedió a hacer la exposición y defensa pública de su tesis Titulada: "**INDUCCIÓN GÉNICA DEL COMPLEJO INFLAMASOMA EN REGIONES CEREBRALES DE RATAS EXPUESTAS A HIPOXIA AMBIENTAL DE GRAN ALTITUD (4 200 m.s.n.m.)**" con el fin de optar el Grado Académico de Magíster en Fisiología. Concluida la exposición, se procedió a la evaluación correspondiente, habiendo obtenido la siguiente calificación **B MUY BUENO (18)**. A continuación, la Presidenta del Jurado recomienda a la Facultad de Medicina se le otorgue el Grado Académico de **MAGÍSTER EN FISIOLOGÍA**, al postulante **ROGER CARLOS CALDERON ROMERO**.*

Se extiende la presente Acta en dos originales y siendo las 12:45 horas se da por concluido el acto académico de sustentación.

Dr. José del Carmen Aliaga Arauco
Profesor Principal
Miembro

Dr. Alberto Córdova Aguilar
Profesor Asociado
Miembro

Dr. Boris Antonio Lira Mejía
Profesor Asociado
Asesor

Dra. Elydia Cornelia Mujica Albán
Profesor Principal
Presidenta

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE
SAN MARCOS
Universidad del Perú, Decana de América

Anexo 1
CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, **BORIS ANTONIO LIRA MEJÍA** en mi condición de asesor acreditado con el Dictamen de la UPG **N° 000830-2024-UPG-VDIP-FM/UNMSM** de la tesis, cuyo título es **"INDUCCIÓN GÉNICA DEL COMPLEJO INFLAMASOMA EN REGIONES CEREBRALES DE RATAS EXPUESTAS A HIPOXIA AMBIENTAL DE GRAN ALTITUD (4 200 m.s.n.m.)"** presentado por el egresado **ROGER CARLOS CALDERON ROMERO** para optar el **GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN FISIOLOGÍA**,

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 **11%** 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 MAGÍSTER EN FISIOLOGÍA.**

Lima, 09 de noviembre de 2026

UNMSM Firmado digitalmente por LIRA MEJIA Boris Antonio FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 13.11.2026 16:58:02 -05:00

Firma del Asesor _____

Nombres y Apellidos del asesor: **BORIS ANTONIO LIRA MEJÍA**

DNI: 10131501

La vigencia del presente certificado corresponde a un período 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.

ÍNDICE

RESUMEN vi
ABSTRACT vii
LISTA DE FIGURAS viii
LISTA DE TABLAS x
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN 1
1.1. Situación problemática 2
1.2. Formulación del problema 2
1.3. Justificación teórica 2
1.4. Justificación práctica 3
1.5. Objetivos 4
1.5.1. Objetivo General 4
1.5.2. Objetivos Específicos 4
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO 5
2.1. Antecedentes 5
2.2. Bases teóricas 7
2.2.1. Gran altitud 7
2.2.2. Clasificación de la altitud 7
2.2.3. Presión atmosférica 9
2.2.4. Factores ambientales de la altitud 10
2.2.5. Fisiología a gran altitud 11
2.2.6. Ventilación 11
2.2.7. Circulación 12
2.2.7.1. Circulación sistémica 13
2.2.7.2. Circulación pulmonar 14
2.2.7.3. Circulación cerebral 14
2.2.8. Sangre y hematopoyesis 15
2.2.9. Mal de altura 16
2.2.10. Mal agudo de Montaña (MAM) 18
2.2.10.1. Síntomas, signos, factores de riesgo y epidemiologia 18
2.2.10.2. Mecanismos fisiopatológicos 20

2.2.10.3. Síndrome cerebral 23
2.2.10.4. Volumen Cerebral 25
2.2.10.5. PIC y flujo sanguíneo cerebral 26
2.2.11. Hipoxia y estrés oxidativo 27
2.2.12. MAM, ECA y estrés oxidativo 30
2.2.13. Inmunidad e inflamación 34
2.2.14. Complejo Inflamasoma 37
2.2.15. Activación inicial del complejo inflamasoma 40
2.2.15.1. Activación canónica y no canónica del complejo inflamasoma 45
2.2.16. Inflamasoma NLRP1 48
2.2.17. Inflamasoma NLRP3 49
2.2.18. Disfunción del NLRP 51
2.2.19. Neuroinflamación y neurodegeración. 52
2.2.20. Neuroinflamacion e hipoxia 54
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA 59
3.1. Tipo y diseño de investigación 59
3.2. Unidad de análisis 59
3.3. Población de estudio 59
3.4. Muestra 59
3.5. Tejido o estructura anatómica analizada 60
3.6. Técnica de Recolección de Datos 60
3.6.1. Materiales y reactivos 60
3.6.2. Equipos 61
3.6.3. Manejo y alojamiento de los animales 61
3.6.4. Selección de muestra 62
3.6.5. Procedimiento de colección de muestras 62
3.7. Inducción génica relacionada al complejo inflamasoma por PCR 63
3.7.1. Extracción total de ARN 65
3.7.2. Síntesis de ADNc 66
3.7.3. Reacción de la cadena de la polimerasa cuantitva (qPCR). 67
3.8. Análisis de la información 67
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 68
4.1. Prueba de hipótesis 68

4.1.1. Hipótesis general 68
4.1.2. Hipótesis específicas 68
4.1.3. Hipótesis estadísticas 68
4.2. Presentación de Resultados 69
4.2.1. Inducción génica de NLRP3 en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental de gran altitud. 69
4.2.2. Inducción génica de IL-6 en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental de gran altitud. 73
4.2.3. Inducción génica de IL-1β en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental de gran altitud. 77
4.2.4. Inducción génica de HIF-1α en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental de gran altitud. 81
4.3. Discusión 85
CONCLUSIONES 92
RECOMENDACIONES 93
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 94

DEDICATORIA

A la memoria de mi padre, René, quien partió demasiado pronto, pero cuyo eco resuena en mi silencio.

A mis abuelitos, Fulgencio y Alejandrina, quienes trascendieron su presencia terrenal hacia la eternidad del infinito.

Aunque no los vea, sé que siempre están a mi lado, acompañándome.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Boris Lira, por su mentoría, amistad, constante apoyo y las facilidades brindadas a lo largo de todo el desarrollo de esta investigación.

Al Dr. José Luis Rodríguez, por su amistad, orientación crítica y los valiosos consejos que han acompañado mi desarrollo académico y profesional.

A la Dra. Mariella Ramos y al Dr. Luis Barrios, por su amabilidad y por brindarme todas las facilidades durante el desarrollo de esta tesis en el Laboratorio de Fisiología Animal de la UNMSM.

A mi mamá, Gladys, por su cariño, apoyo constante, confianza y guía, especialmente durante estos últimos años.

A la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por el financiamiento otorgado mediante el proyecto A24080221-PCONFIGI. Resolución Rectoral N.° 004305-2024-R/UNMSM.

Al Programa Nacional de Investigación Científica y Estudios Avanzados (ProCiencia) y al Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC), Perú, por el financiamiento otorgado en el marco del Concurso E073-2024-01: «Tesis de Pregrado y Posgrado en Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica». Resolución de Dirección Ejecutiva N.° 083-2024-PROCIENCIA-DE.

Mi corazón con ustedes, siempre.

RESUMEN

Objetivo: El presente estudio evaluó el efecto de la hipoxia ambiental de gran altitud y el tiempo de exposición sobre la inducción génica del complejo inflamasoma en regiones cerebrales de ratas expuestas a 4200 m s.n.m., en comparación con un grupo control en normoxia a nivel del mar a los días 1, 3, 7, 14 y 28. **Métodos y resultados**: Se criaron dos grupos de ratas: un grupo control mantenido en Lima (161 m s. n. m.) y un grupo experimental en Casapalca, expuesto a hipoxia ambiental de gran altitud (4200 m s. n. m.). Cada grupo estuvo conformado por cinco subgrupos de tres animales cada uno, con muestreos simultáneos de regiones cerebrales en los días 1, 3, 7, 14 y 28 de exposición. Los resultados de la inducción génica se expresaron como media ± SEM y se analizaron por ANOVA con GraphPad Prism 8. Los resultados indicaron que la hipoxia y el tiempo de exposición promovieron la inducción génica de NLRP3 en cuerpo estriado, hipocampo e hipotálamo, con respuestas más tempranas en hipocampo e hipotálamo y menor sensibilidad en corteza frontal. IL-6 e IL-1β mostraron incrementos significativos en todas las regiones evaluadas, destacando respuestas más tempranas y sostenidas en hipocampo. HIF-1α presentó una inducción temprana en cuerpo estriado y tardía en hipotálamo, mientras que hipocampo y corteza frontal evidenciaron menor sensibilidad condiciones de hipoxia. **Conclusión:** La exposición de ratas a la hipoxia ambiental de gran altitud genera la inducción génica del complejo inflamasoma (NLRP3, IL-6, IL-1β Y HIF-1α), mostrando respuestas variables según la región cerebral, con mayor sensibilidad en el cuerpo estriado y el hipotálamo.

Palabras clave: Casapalca; HIF-1α; IL-1β; IL-6; NLRP3

ABSTRACT

Objective: The present study evaluated the effect of high-altitude environmental hypoxia and exposure time on the gene induction of the inflammasome complex in brain regions of rats exposed to 4,200 m above sea level, compared with a control group maintained under normoxic conditions at sea level at days 1, 3, 7, 14, and 28. **Methods and Results:** Two groups of rats were raised: a control group maintained in Lima (161 m above sea level) and an experimental group in Casapalca, exposed to high-altitude environmental hypoxia (4200 m above sea level). Each group consisted of five subgroups of three animals each, with simultaneous sampling of brain regions at 1, 3, 7, 14, and 28 days of exposure. Gene induction results were expressed as mean ± SEM and analyzed by ANOVA using GraphPad Prism 8. The results indicated that hypoxia and exposure time promoted NLRP3 gene induction in the striatum, hippocampus, and hypothalamus, with earlier responses in the hippocampus and hypothalamus and lower sensitivity in the frontal cortex. IL-6 and IL-1β showed significant increases in all evaluated regions, highlighting earlier and sustained responses in the hippocampus. HIF-1α presented early induction in the striatum and delayed induction in the hypothalamus, while the hippocampus and frontal cortex showed lower sensitivity under hypoxic conditions.

Conclusion: Exposure of rats to high-altitude environmental hypoxia generates gene induction of the inflammasome complex (NLRP3, IL-6, IL-1β, and HIF-1α), showing variable responses according to brain region, with greater sensitivity in the striatum and hypothalamus.

Keywords: Casapalca; HIF-1α; IL-1β; IL-6; NLRP3

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Clasificación de la altitud.....8
Figura 2: Relación entre la altitud y la presión barométrica con la PaO_2, la PIO_2 y la SaO_2 (Gallagher & Hackett, 2004).....10
Figura 3: Clasificación del mal de altura, según el tiempo y duración de su manifestación. 18
Figura 4: Patogenia propuesta del MAM (Hackett & Roach, 2001).....23
Figura 5: Efecto de la hipoxia a gran altitud en la neuroinflamacion, activación del complejo inflamasoma y otros mediadores. 34
Figura 6: Estructura del inflamasoma NLRP3 (Schroder & Tschopp, 2010). 38
Figura 7: Activación del inflamasoma NLPR3 (Schroder & Tschopp, 2010). 44
Figura 8: Grupos de ratas (Lima y Casapalca). En ambos se evaluó la inducción génica del complejo inflamasoma a los días 1, 3, 7, 14 y 28 respectivamente. 62
Figura 9: Crianza de ratas a 4 200 m.s.n.m (grupos de gran altitud - Casapalca) en condiciones ambientales controladas durante 28 días. 63
Figura 10: Toma de muestra cerebrales en Casapalca y su transporte refrigerado a Lima su posterior procesamiento. 63
Figura 11: Extracción total de ARN, síntesis de ADNc y qPCR de las muestras de regiones cerebrales expuestas a normoxia e hipoxia ambiental a gran altitud.....64
Figura 12. Inducción génica de NLRP3 a nivel del cuerpo estriado de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días.. 69
Figura 13. Inducción génica de NLRP3 a nivel del hipocampo de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. 70
Figura 14. Inducción génica de NLRP3 a nivel de la corteza frontal de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. 71
Figura 15. Inducción génica de NLRP3 a nivel del hipotálamo de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. 72
Figura 16. Inducción génica de IL-6 a nivel del cuerpo estriado de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. 73
Figura 17. Inducción génica de IL-6 a nivel del hipocampo de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. 74
Figura 18. Inducción génica de IL-6 a nivel de la corteza frontal de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. 75
Figura 19. Inducción génica de IL-6 a nivel del hipotálamo de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. 76

Figura 20. Inducción génica de IL-1β a nivel del cuerpo estriado de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. 77
Figura 21. Inducción génica de IL-1β a nivel del hipocampo de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. 78
Figura 22. Induccion génica de IL-1β a nivel de la corteza frontal de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. 79
Figura 23. Inducción génica de IL-1β a nivel del hipotálamo de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. 80
Figura 24. Inducción génica de HIF-1α a nivel del cuerpo estriado de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. 81
Figura 25. Inducción génica de HIF-1α a nivel del hipocampo de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. 82
Figura 26. Inducción génica de HIF-1α a nivel de la corteza frontal de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. 83
Figura 27. Inducción génica de HIF-1α a nivel del hipotálamo de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. 84

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de altitud y FiO_2 equivalente..... 9

Tabla 2: Cebadores (Forward y Reverse) para GAPDH, NLRP3, IL-6, IL-1β e HIF-1 α. 65

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

Cada año, millones de personas en todo el mundo ascienden a zonas de gran altitud, muchas por encima de los 1 500 m s. n. m., exponiéndose a condiciones fisiológicas y ambientales particulares (Paralikar & Paralikar, 2010). En Sudamérica, el flujo turístico hacia el Perú ha crecido últimamente, con gran concentración en destinos ubicados por encima de los 2 500 m s. n. m., como Cusco (Salazar et al., 2012). Además, existen comunidades que habitan de manera permanente en estas regiones, habiendo desarrollado adaptaciones fisiológicas que les permiten vivir en ambientes con baja disponibilidad de oxígeno (Gatterer et al., 2024; Getu, 2022). Esta situación evidencia la importancia de comprender los efectos de la altitud tanto en visitantes temporales como en poblaciones residentes.

La exposición a hipoxia aguda o crónica en altitud, junto con otros factores ambientales propios de estos entornos, genera cambios fisiológicos y puede desencadenar enfermedades como el mal de altura (Bouchard et al., 1992; Hackett & Roach, 2001). La reducción de la presión parcial de oxígeno afecta de forma significativa a estructuras sensibles, particularmente dentro del sistema nervioso, contribuyendo a procesos neuroinflamatorios (Guo et al., 2015; Martinon et al., 2002). Además, ciertas condiciones preexistentes pueden intensificar la hipoxemia a gran altitud (Weil, 2004).

La neuroinflamación participa en diversos mecanismos fisiopatológicos, incluyendo alteraciones vasogénicas, estrés oxidativo, neurodegeneración y respuestas compensatorias que culminan en manifestaciones clínicas variables (Chao et al., 1999; Jenkins & Goldfarb, 1993; Kryger et al., 1987). En este contexto, la activación del inflamasoma en el tejido nervioso y la liberación de citocinas proinflamatorias se asocian directamente con los procesos inflamatorios que originan los signos y síntomas del mal de altura. Con base en lo anterior, el presente estudio evaluó la inducción génica de estos complejos multiproteicos inflamasomas en regiones específicas del cerebro de ratas expuestas a la hipoxia de gran altitud.

1.1. Situación problemática

En nuestro país, una proporción importante de la población reside o se desplaza de forma continua o temporal hacia zonas ubicadas a gran altitud, por lo que la exposición a la hipoxia representa un estímulo ambiental recurrente. La disminución de la presión parcial de oxígeno, junto con condiciones propias de la altura como el frío intenso y la elevada radiación ultravioleta, desencadena estrés oxidativo y procesos inflamatorios en el tejido nervioso. Esto promueve la activación de rutas celulares y moleculares relacionadas con la activación del complejo inflamasoma y la liberación de citocinas proinflamatorias, contribuyendo a un estado neuroinflamatorio y a manifestaciones clínicas asociadas al mal de altura.

Dada la constante exposición de la población peruana a la hipoxia, se vuelve pertinente profundizar en los mecanismos moleculares que regulan la activación del inflamasoma y mecanismos involucrados en la neuroinflamación en regiones cerebrales específicas, las cuales son vulnerables a condiciones de déficit de oxígeno tanto de manera aguda como crónica. Un entendimiento más claro de estas rutas permite explicar con mayor precisión el daño neurológico inducido por la altura y orientar estrategias que mejoren la adaptación fisiológica. Además, estos conocimientos aportan información para continuar desarrollando alternativas de prevención, principalmente nutracéuticas y farmacológicas, dirigidas a reducir las consecuencias adversas de la exposición a la gran altitud.

1.2. Formulación del problema

¿La exposición a la hipoxia ambiental de gran a la altitud promueve la inducción génica del complejo inflamosoma en el cerebro de ratas durante los días 1, 3, 7, 14 y 28 de evaluación?

1.3.Justificación teórica

La hipoxia ambiental de gran altitud constituye un modelo natural de estrés hipóxico que induce respuestas adaptativas a nivel sistémico y celular. Si bien los mecanismos cardiovasculares y respiratorios involucrados en la adaptación a la altura han sido ampliamente estudiados, aún existe información limitada sobre los mecanismos

moleculares que regulan la respuesta inflamatoria en las diferentes regiones cerebrales bajo condiciones de hipoxia ambiental natural.

El complejo inflamasoma NLRP3 desempeña un papel central en la regulación de la respuesta inflamatoria, pero su inducción génica en regiones cerebrales específicas frente a hipoxia ambiental natural ha sido escasamente estudiada. Considerando la alta demanda metabólica del cerebro y la susceptibilidad diferencial de sus regiones, resulta relevante analizar la respuesta regional y temporal del inflamasoma. Debido a las limitaciones para estudiar tejido cerebral humano en estas condiciones, el uso de un modelo experimental en ratas permite explorar estos mecanismos de manera controlada.

1.4. Justificación práctica

El presente estudio es relevante en el contexto de nuestro país, donde la exposición aguda a la hipoxia ambiental es frecuente durante el desplazamiento de diversas poblaciones hacia zonas de gran altitud. Analizar el efecto de la hipoxia y del tiempo de exposición a la gran altitud sobre la inducción génica del complejo inflamasoma en diferentes regiones cerebrales permite comprender los mecanismos moleculares implicados en la respuesta neuroinflamatoria temprana frente a la disminución de oxígeno.

Dado que la obtención de tejido nervioso humano en condiciones experimentales no es viable por razones éticas y técnicas, se empleó un modelo experimental en ratas para evaluar de manera controlada los cambios moleculares inducidos por la exposición aguda a la hipoxia de gran altitud. Los resultados constituyen una base para futuras investigaciones orientadas al desarrollo de estrategias neuroprotectoras y a la comprensión de los mecanismos de adaptación del sistema nervioso en el nativo de altura, quien, a pesar de estar expuesto de forma crónica a la hipoxia, no presenta una función cerebral disminuida. Asimismo, el modelo de exposición natural a 4200 m s. n. m. constituye una referencia metodológica valiosa para estudios posteriores sobre la fisiología de la exposición aguda y los procesos de adaptación a la gran altitud.

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo General

- Evaluar el efecto de la hipoxia ambiental de gran altitud y el tiempo de exposición sobre la inducción génica del complejo inflamasoma en regiones cerebrales de ratas expuestas a 4200 m s. n. m., en comparación con un grupo control en normoxia a nivel del mar, los días 1, 3, 7, 14 y 28.

1.5.2. Objetivos Específicos

- Evaluar el efecto de la hipoxia ambiental de gran altitud y el tiempo de exposición sobre la inducción génica de NLRP3 en el cuerpo estriado, hipocampo, corteza frontal e hipotálamo de ratas expuestas a 4200 m s. n. m., en comparación con un grupo control en normoxia a nivel del mar, los días 1, 3, 7, 14 y 28.
- Evaluar el efecto de la hipoxia ambiental de gran altitud y el tiempo de exposición sobre la inducción génica de IL-6 en el cuerpo estriado, hipocampo, corteza frontal e hipotálamo de ratas expuestas a 4200 m s. n. m., en comparación con un grupo control en normoxia a nivel del mar, los días 1, 3, 7, 14 y 28.
- Evaluar el efecto de la hipoxia ambiental de gran altitud y el tiempo de exposición sobre la inducción génica de IL-1β en el cuerpo estriado, hipocampo, corteza frontal e hipotálamo de ratas expuestas a 4200 m s. n. m., en comparación con un grupo control en normoxia a nivel del mar, los días 1, 3, 7, 14 y 28.
- Evaluar el efecto de la hipoxia ambiental de gran altitud y el tiempo de exposición sobre la inducción génica de HIF-1α en el cuerpo estriado, hipocampo, corteza frontal e hipotálamo de ratas expuestas a 4200 m s. n. m., en comparación con un grupo control en normoxia a nivel del mar, los días 1, 3, 7, 14 y 28.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Diversos estudios experimentales han empleado modelos animales, principalmente en roedores, para investigar el papel de la hipoxia en la activación del complejo inflamasoma a nivel de los tejidos cerebrales. Entre los modelos más utilizados destaca la isquemia cerebral inducida por oclusiones temporales de la arteria cerebral media, la cual ha demostrado desencadenar la activación del inflamasoma, junto con mecanismos concomitantes como el incremento en la producción de radicales libres, la liberación de interleucinas proinflamatorias y el daño mitocondrial, contribuyendo al daño neuronal secundario (Wang et al., 2022).

Asimismo, se ha reportado la activación de este complejo inflamatorio mediante el modelo de hemorragia intracerebral, inducido por la inyección de sangre arterial autóloga, lo que genera una respuesta inflamatoria persistente en el parénquima cerebral (Ma et al., 2014). De manera complementaria, estudios que exponen ratas a condiciones ambientales de gran altitud, superiores a 3000 m s. n. m., han evidenciado un patrón similar de activación del inflamasoma, asociado a un incremento del estrés oxidativo, la generación de radicales libres y una disminución de los mecanismos antiapoptóticos, lo que sugiere una vulnerabilidad cerebral inducida por hipoxia crónica (Lira et al., 2025).

En investigaciones adicionales se ha demostrado que la hipoxia cerebral se asocia a un incremento significativo en la producción de radicales libres, lo cual genera alteraciones en la fisiología neuronal y compromete la integridad celular y la función sináptica, favoreciendo la activación de vías apoptóticas mediadas por caspasas y, en casos más severos, la necrosis neuronal (Maiti et al., 2008).

En este contexto, investigaciones realizadas en regiones cerebrales como el hipocampo y la corteza prefrontal bajo hipoxia simulada evidenciaron cambios estructurales y funcionales vinculados a la memoria espacial, caracterizados por daño neuronal inicial y una recuperación progresiva tras exposiciones prolongadas. Además, se ha reportado que

la hipoxia a gran altitud induce estrés oxidativo cerebral, con aumento de radicales libres, así como procesos de neurodegeneración, siendo estos efectos más marcados durante la exposición aguda a la hipoxia (Maiti et al., 2010).

Investigaciones en regiones cerebrales, como hipocampo y corteza prefrontal bajo condiciones de hipoxia simulada mostraron alteraciones estructurales y funcionales asociadas a la memoria espacial, con daño neuronal inicial y recuperación progresiva tras exposiciones prolongadas (Maiti et al., 2008). Asimismo, se ha evidenciado que la hipoxia a gran altitud induce estrés oxidativo cerebral, radicales libres, ON, asi como neurodegeneración especialmente en la exposición aguda a la hipoxia (Maiti et al., 2010).

Se ha descrito en modelos murinos de hipoperfusión cerebral crónica un incremento significativo de la activación de inflamasomas en el tejido cerebral, observado a las 2 y 4 semanas posteriores a la estenosis bilateral de las arterias carótidas comunes, lo que sugiere un rol sostenido de estos complejos en la respuesta inflamatoria inducida por la reducción prolongada del flujo sanguíneo cerebral y sensibilidad al déficit de O_2 (Matsuyama et al., 2020).

Se ha evidenciado que la activación de los inflamasomas promueve el procesamiento y la secreción de citocinas proinflamatorias, particularmente IL-1β e IL-18, las cuales se encuentran elevadas en distintos modelos experimentales de isquemia cerebral. Esta respuesta inflamatoria se atribuye principalmente a la activación de la microglía y se vincula estrechamente con mecanismos de excitotoxicidad y daño neuronal (Gao et al., 2017).

En concordancia, estudios realizados en modelos murinos con deleción genética o bloqueos de componentes específicos del inflamasoma han demostrado una disminución significativa de los niveles de IL-1β, acompañada de una atenuación del daño neurovascular, lo que respalda el rol patogénico de estas vías inflamatorias en la lesión cerebral isquémica y amplía la evidencia sobre el potencial neuroprotector del bloqueo de la activación de los inflamasomas (Jiang et al., 2020; Yang et al., 2014).

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Gran altitud

Como se ha señalado previamente, cada año existen movilizaciones masivas de personas de diversas regiones del mundo a diferentes altitudes. Muchos de estos destinos se encuentran por encima de los 1 500 m s.n.m., visitando diversas áreas de recreación como el Himalaya en Asia, los Alpes en Europa, las Montañas Rocosas en los Estados Unidos y los Andes de América del Sur (Paralikar & Paralikar, 2010).

Los viajes a los Andes Sudamericanos han ido en aumento en los últimos años, tal es el caso de países como Bolivia, Colombia, Ecuador y Perú. Los principales destinos turísticos en estas regiones se localizan a niveles mayores a los 2 500 metros (m) de altitud, como La Paz (3 660 m) en Bolivia, Quito (2 850 m) en Ecuador, Bogotá (2 640 m) en Colombia y Cusco (3 400 m), en los Andes del sur de Perú (Salazar et al., 2012).

Además de la actividad turística en zonas de gran altitud, se estima que más de 80 millones de personas residen permanentemente a alturas superiores a los 2 500 m s.n.m. (Gatterer et al., 2024). Estos grupos humanos han desarrollado mecanismos de adaptación que les han permitido sobrevivir durante miles de años en entornos con bajos niveles de oxígeno (O_2) (Getu, 2022). En contraste, la mayoría de las personas que ascienden gradualmente a grandes altitudes experimentan una serie de cambios fisiológicos temporales conocidos como aclimatación (Paralikar & Paralikar, 2010).

2.2.2. Clasificación de la altitud

A medida que incrementa la altitud, se producen diversos cambios medioambientales, entre uno de los más relevantes: la disminución de la presión atmosférica. Aunque la fracción inspirada de oxígeno (FiO_2) se mantiene constante (entre 20,9% a 21% aproximadamente), la presión parcial de oxígeno (PaO_2) disminuye progresivamente. Esta reducción en la PaO_2 conlleva una menor disponibilidad de O_2 para la actividad metabólica de los tejidos (Sinex & Chapman, 2015).

Se han propuesto diversas clasificaciones de la altitud (Tabla 1) para definir rangos aproximados donde ocurren cambios fisiológicos específicos, así como efectos en el rendimiento y la resistencia, los cuales pueden disminuir con la exposición y el

entrenamiento en condiciones hipóxicas. Estas clasificaciones también consideran variaciones en el volumen eritrocitario, la capacidad aeróbica máxima y la densidad capilar, entre otros factores (Paralikar & Paralikar, 2010; Sinex & Chapman, 2015).

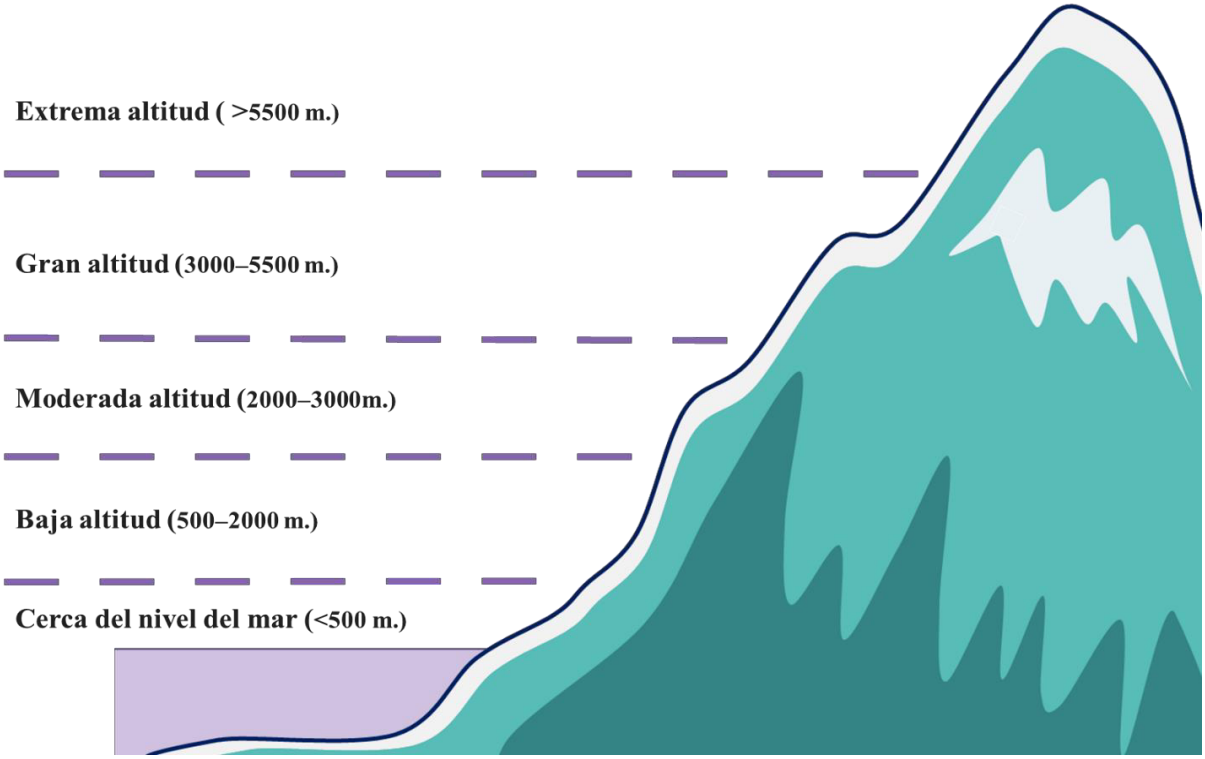

Figura 1: Clasificación de la altitud.

En individuos que ascienden rápidamente a la altitud, los mecanismos fisiológicos iniciales se activan cuando disminuye la presión inspiratoria de oxígeno (PIO_2) a partir de los 1 500 m. Entre los 3 500 y 5 500 m (Figura 1), es decir, gran altitud, estos cambios se intensifican, con una marcada reducción de la saturación de oxígeno (SaO_2), la cual, puede caer por debajo del 90% (Paralikar & Paralikar, 2010).

A medida que se alcanza altitud extrema, es muy probable un deterioro progresivo de las funciones fisiológicas, que en muchos casos supera la capacidad de aclimatación (Hackett & Roach, 2001). Además, los asentamientos humanos por encima de los 5 500 m son escasos debido a las condiciones climáticas y ambientales adversas (Hackett & Roach, 2001).

Tabla 1. Clasificación de altitud y FiO_2 equivalente (Sinex & Chapman, 2015).

Clasificación	Altitud (m)	Altitud (pies)	Fi_{O_2} equivalente (%)
Cerca del nivel del mar	<500	<1640	19.8–20.9
Baja altitud	500–2 000	1 640–6 560	16.7–19.8
Moderada altitud	2 000–3 000	6 560–9 840	14.8–16.7
Gran altitud	3 000–5 500	9 840–18 040	10.9–14.8
Extrema altitud	>5 500	>18 040	≤10,9

2.2.3. Presión atmosférica

Como ya se mencionó, con el aumento de altitud, la presión atmosférica y la presión de oxígeno (PO_2) disminuyen (Bouchard et al., 1992). La disminución de la presión barométrica conforme al aumento de la altitud ocurre de forma logarítmica, generando el decremento de la PaO_2 (Sinex & Chapman, 2015); esto da lugar a la principal condición agravante de la gran altitud: la hipoxia (Paralikar & Paralikar, 2010).

Los valores de PO_2 del aire ambiental, PIO_2, PO_2 alveolar, SaO_2 y la presión barométrica disminuyen progresivamente (Figura 2), llegando a causar hipoxemia. La SaO_2 se mantiene relativamente estable hasta aproximadamente los 3 000 m, a pesar de la reducción significativa de la PO_2 arterial. Por encima de esta altitud, pequeñas disminuciones de la PO_2 arterial generan grandes cambios en la saturación arterial. Factores como depresores respiratorios, esfuerzo físico intenso, hipotermia y ciertas condiciones médicas preexistentes pueden agravar la hipoxemia en altura (Gallagher & Hackett, 2004).

Se ha señalado que, a 5 800 m, la presión barométrica es aproximadamente la mitad de la registrada a nivel del mar, mientras que en la cumbre del Monte Everest (8 848 m) alcanza apenas 253 mmHg. En consecuencia, la PO_2 alveolar se reduce a tan solo 35 mmHg, un valor extremadamente bajo si se considera que a nivel del mar la PO_2 alveolar es de 104 mmHg) ((Hackett & Roach, 2001; Paralikar & Paralikar, 2010).

La latitud tambien influye en la relación entre la presión barométrica y la altitud, es por ello que a nivel de las regiones polares se han encontrado una mayor hipoxia a gran altitud, además de frío extremo, siendo la presión menor en invierno que en verano (Weil, 2004).

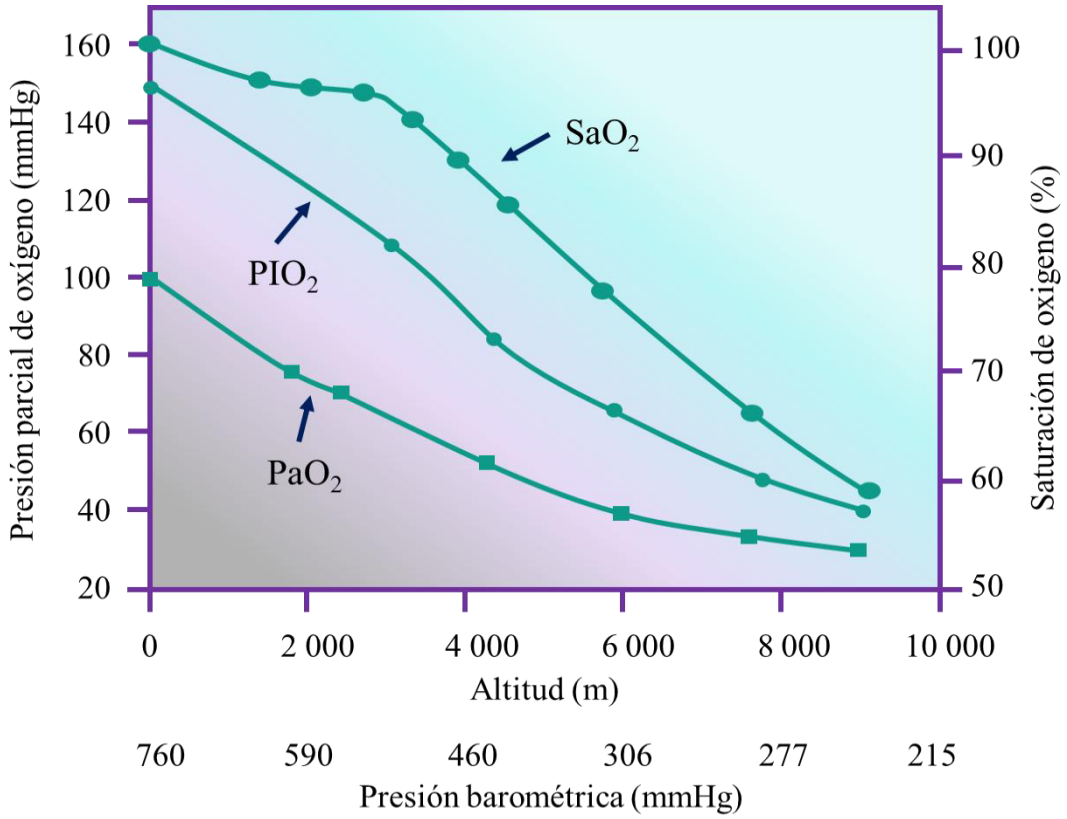

Figura 2: Relación entre la altitud y la presión barométrica con la PaO_2, la PIO_2 y la SaO_2 (Gallagher & Hackett, 2004).

2.2.4. Factores ambientales de la altitud

Los efectos de la altitud en el organismo son multifactoriales. Aunque la reducción de la PO_2 es el factor ambiental más relevante, intervienen otros elementos como la menor humedad y el incremento de la radiación ultravioleta (UV), fenómeno que se acentúa con la altitud debido a la baja densidad del aire y la mayor transparencia atmosférica (Gallagher & Hackett, 2004).

Además, el descenso de la temperatura respecto al ascenso altitudinal, sumado al efecto combinado del frío y la hipoxia, puede intensificar daños relacionados con el frío y generar alteraciones respiratorias, incluyendo edema en los tejidos pulmonares (Weil,

2004). La exposición prolongada a estos factores provoca no solo adaptaciones fisiológicas, sino también enfermedades asociadas a la altitud, como el mal de altura, que puede ser agudo o crónico (Chao et al., 1999).

2.2.5. Fisiología a gran altitud

Como se ha descrito, el ascenso rápido a grandes altitudes desde niveles cercanos al mar activa diversos mecanismos fisiológicos, que comienzan a manifestarse de manera notable a partir de los 2 500 m, generando síntomas y signos en respuesta a las las variaciones ambientales hostiles (Hackett & Roach, 2001; Paralikar & Paralikar, 2010).

Las respuestas fisiológicas frente a la hipoxia aguda o crónica han sido ampliamente estudiadas y pueden ir desde efectos adversos graves y potencialmente fatales hasta adaptaciones beneficiosas a largo plazo (Sinex & Chapman, 2015). Estas adaptaciones permiten ajustes progresivos orientados a preservar la función orgánica y favorecer la supervivencia durante la aclimatación (Hackett & Roach, 2001). En conjunto, dichos cambios optimizan el suministro celular de O_2 mediante la coordinación de los sistemas respiratorio, cardiovascular y hematológico, reforzando además los mecanismos celulares de captación y utilización del O_2 (Paralikar & Paralikar, 2010).

Asimismo, las alteraciones derivadas directamente del ambiente a gran altitud se denominan enfermedades relacionadas con la altitud, mientras que las condiciones médicas previas que empeoran en este contexto se consideran afecciones exacerbadas por esta altitud (Hackett & Roach, 2001). Algunas de las principales respuestas fisiológicas multisistémicas se describen a continuación.

2.2.6. Ventilación

La exposición a la hipoxia a gran altitud aumenta la tasa de ventilación al estimular los quimiorreceptores periféricos, disminuyendo el dióxido de carbono (CO_2) del alvéolo y aumentando los niveles de O_2 alveolar, esto genera el incremento del suministro de O_2 a los tejidos en general. Esta respuesta de ventilación, comienza a los primeros minutos de exposición a alturas que van desde los 1 500 m, y pueden prolongarse durante horas desde la exposición a la gran altitud (Paralikar & Paralikar, 2010).

El cuerpo carotídeo detecta la disminución de la PO_2 arterial y envía señales al centro respiratorio del bulbo raquídeo, generando un aumento de la ventilación, conocido como respuesta ventilatoria hipóxica (RVH) (Kryger et al., 1987; Paralikar & Paralikar, 2010). Si bien la RVH tiene una base genética, su magnitud puede ser modulada por factores intrínsecos y extrínsecos, siendo estos últimos los más influyentes. Entre ellos destacan los estimulantes metabólicos, como la cafeína y el cacao, y los estimulantes respiratorios, como la secreción de progesterona, que potencian la RVH (Kryger et al., 1987).

En contraste, depresores respiratorios como el alcohol y los trastornos del sueño (por ejemplo, el sueño fragmentado) disminuyen la RVH, mientras que el acondicionamiento físico no muestra influencia significativa (Hackett & Roach, 2001; Kryger et al., 1987). Una RVH adecuada favorece la aclimatación y el rendimiento físico; en cambio, su disminución se asocia con mayor riesgo de mal de altura, aunque la susceptibilidad individual sigue siendo muy variable (Hackett & Roach, 2001).

La hiperventilación inicial en hipoxia a gran altitud produce una reducción marcada del CO_2, generando hipocapnia y alcalosis respiratoria, lo que transitoriamente atenúa el impulso ventilatorio central. Como compensación, los riñones incrementan la excreción de bicarbonato (HCO_3^-) y reducen la eliminación de H^+, restaurando progresivamente el equilibrio ácido–base en sangre y líquido cefalorraquídeo (LCR). Esto permite recuperar el estímulo ventilatorio y sostener la respuesta respiratoria (Paralikar & Paralikar, 2010; Sinex & Chapman, 2015). La ventilación alcanza su máximo entre 4 y 7 días a una misma altitud, mientras que la reducción de HCO_3^- plasmático continúa, incrementando la ventilación con ascensos sucesivos (Paralikar & Paralikar, 2010).

2.2.7. Circulación

Los cambios circulatorios iniciales a la gran altitud se manifiestan multisistemicamente además de la actividad hemodinámica por parte de individuos en hipoxia (Paralikar & Paralikar, 2010).

2.2.7.1. Circulación sistémica

Las respuestas del organismo a la gran altitud son altamente sensibles y varían con el tiempo (Sinex & Chapman, 2015). Desde el inicio del ascenso se activa el sistema simpático, lo que produce un leve aumento de la presión arterial (PA), una ligera elevación de la frecuencia cardíaca (FC) y un mayor tono venoso (Paralikar & Paralikar, 2010).

La diuresis de HCO_3^-, el desplazamiento de líquidos fuera del compartimento intravascular y la disminución inicial de aldosterona reducen el volumen plasmático y, en consecuencia, el volumen sistólico (Paralikar & Paralikar, 2010). Los deportistas expuestos a altitudes moderadas suelen perder entre 10 % y 15 % del volumen plasmático desde las primeras horas, lo que disminuye la precarga, el gasto cardíaco (GC) máximo y puede afectar la termorregulación. Esta pérdida no solo responde a la compensación ácido-base, sino también al aumento de eritropoyetina (EPO) (Sinex & Chapman, 2015).

Durante los procesos de aclimatación, la FC en reposo tiende a asemejarse a los valores en individuos residentes a niveles cercanos al mar, excepto en exposiciones a altitudes extremadamente altas (Paralikar & Paralikar, 2010).

En estudios simulados de extrema altitud, la función cardíaca se mantuvo adecuada para el trabajo ejercido, y el GC no fue un factor limitante del rendimiento (Reeves & León-Velarde, 2004). Además, no se han reportado casos de isquemia miocárdica en personas sanas pese a la hipoxemia severa, lo que se explica por la menor demanda miocárdica de O_2 asociada a la reducción de la FC máxima y del GC (Paralikar & Paralikar, 2010).

En estudios ecográficos, se observó un ventrículo izquierdo de menor tamaño debido a la reducción del volumen sistólico, mientras que el ventrículo derecho puede aumentar su volumen (Grünig et al., 2000). Aunque la vasoconstricción pulmonar incrementa la presión de la arteria pulmonar, no genera disfunción diastólica izquierda gracias al incremento compensatorio de la contracción auricular (Allemann et al., 2004).

2.2.7.2. Circulación pulmonar

La hipoxia desencadena vasoconstricción pulmonar hipóxica (VPH), lo que incrementa la presión arterial pulmonar (PAP) y contribuye al desarrollo de hipertensión pulmonar (HP) (Paralikar & Paralikar, 2010). En casos leves, la HP puede intensificarse durante el ejercicio, alcanzando valores similares a la presión sistémica (Groves et al., 1987), sobre todo en sujetos con antecedente de edema pulmonar de gran altitud (EPAA/HAPE) o en residentes de altura que retornan tras estancias a baja altitud (Bärtsch et al., 2005). En atletas expuestos a hipoxia hipobárica por 40 días, la PAP y la resistencia vascular pulmonar (RVP) aumentaron progresivamente desde el nivel del mar (760 Torr) hasta valores equivalentes a la altitud del Everest (282 Torr) (Groves et al., 1987).

En simulaciones de gran altitud, incluso con PAP medias cercanas a 60 mmHg, el gasto cardíaco (GC) permaneció estable y la presión auricular derecha no superó los valores basales al nivel del mar, indicando una función del ventrículo derecho conservada pese a la hipoxemia y la HP severa (Groves et al., 1987; Paralikar & Paralikar, 2010). La respiración con O_2 al 100 % redujo tanto PAP como GC, sin cambios significativos en la RVP. Además, la presión arterial sistémica y la resistencia vascular sistémica no aumentaron con la altitud, aunque sí con la administración de oxígeno, lo que sugiere mecanismos reguladores distintos a los pulmonares.

En conjunto, la hipoxia crónica severa genera un aumento importante de la RVP sin producir insuficiencia del ventrículo derecho y con una respuesta incompleta a la oxigenoterapia (Groves et al., 1987).

2.2.7.3. Circulación cerebral

El aporte de O_2 al cerebro, es el resultado conjunto del contenido de O_2 arterial y el flujo sanguíneo cerebral (FSC), esto depende intrínsecamente del equilibrio neto entre la vasodilatación hipóxica y la vasoconstricción inducida por la hipocapnia existente (Ainslie & Poulin, 2004). En exposiciones a altitud, el valor de la FSC aumenta, a pesar de la hipocapnia concomitante, incluso cuando la PaO_2 es inferior a los 60 mmHg (en altitudes superiores a 2 800 m) (Ainslie & Poulin, 2004; Paralikar & Paralikar, 2010).

La variación individual del FSC está relacionada con la variación en la respuesta ventilatoria a la hipoxia que manifiesta cada organismo (Ainslie & Poulin, 2004, (Poulin & Robbins, 1998). En estudios a personas sometidas a hipoxia isocápnica aguda (PO_2 espiratoria final de 50 mmHg durante 20 minutos), señalaron que los cambios en el FSC a la respuesta ventilatoria hipóxica son cuantitativamente insuficientes ante tal exposición (Poulin & Robbins, 1998).

Aún es escasa la información disponible sobre las respuestas fisiológicas ventilatorias, cerebrovasculares y cardiovasculares combinadas a la exposición a la hipoxia aguda en humanos (Paralikar & Paralikar, 2010; Poulin & Robbins, 1998).

2.2.8. Sangre y hematopoyesis

Los estudios pioneros de Viault (1981) evidenciaron que los animales residentes en los Andes presentaban niveles elevados de hemoglobina (Hb), destacando que el aumento de la hematopoyesis es clave para la aclimatación. La hipoxia es el estímulo primario para la liberación de EPO, lo que impulsa la eritropoyesis (Barrett et al., 2009). La EPO puede elevarse desde las 2 h de exposición; eritroblastos circulan en pocos días y los eritrocitos maduros aparecen alrededor del día 4–5 (Viault, 1981).

Por otro lado, la reducción del volumen plasmático por diuresis incrementa la concentración de Hb. La aclimatación a largo plazo, produce un incremento del volumen sanguíneo, así como de la masa de eritrocitos, generando un efecto conjunto de incremento del volumen sanguíneo (Hackett & Roach, 2001).

El aumento de la hemoconcentración, favorece notablemente la búsqueda por mantener la saturación arterial de oxihemoglobina, hasta lograr que el volumen de los eritrocitos aumente y el volumen plasmático se normalice o supere el valor fisiológico de estos parámetros (Sinex & Chapman, 2015). En habitantes de gran altitud, la mayor concentración de Hb facilita el transporte de O_2, aunque valores excesivos ($\geq$ 21 g/100 mL) caracterizan la policitemia crónica del “Mal de Monge” (Ramírez Ramos & Castillo Rosales, 2008; Reeves & León-Velarde, 2004).

Modelos teóricos indican que concentraciones de Hb > 18 g/100 mL no aumentan más el transporte de O_2 en reposo. Comparando la SaO_2 del 97 % versus 87 %, la Hb y el contenido de O_2 aumentan de 14,5 a 17,5 g/100 mL y de 4,11 % a 5,03 %, respectivamente. Con SaO_2 de 66 %, el contenido de O_2 cae a 3,77 % pese a Hb de 24,2 g/100 mL, sugiriendo que el aumento de Hb mejora la extracción de O_2 hasta un punto óptimo, y que en hipoxemia severa intervienen tanto el aumento de Hb como el gasto cardíaco (GC) (Reeves & León-Velarde, 2004).

La hiperventilación inducida por hipoxia (como mecanismo compensatorio) produce alcalosis respiratoria y desplaza la curva de disociación de la Hb hacia la izquierda, mejorando la captación pulmonar de O_2, pero dificultando su liberación tisular. De forma compensatoria, aumenta el 2,3-DPG eritrocitario, que reduce la afinidad de Hb-O_2 y facilita la entrega tisular, optimizando la oxigenación pese a una PaO_2 limitada (Barrett et al., 2009; Paralikar & Paralikar, 2010).

A nivel periférico, el factor inducible por hipoxia-1 alfa (HIF-1α) promueve la angiogénesis, estimulando la producción del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), aumentando así el flujo sanguíneo, la densidad mitocondrial, la mioglobina y el contenido de citocromo oxidasa (COX) (Barrett et al., 2009).

Los cambios inducidos por la hipoxia pueden disminuir el rendimiento físico, generando disnea, mayor carga ventilatoria, estrés oxidativo, hemoconcentración, deshidratación, menor capacidad de entrenamiento, quemaduras solares por mayor radiación UV y reducción del GC (Issurin, 2007). A largo plazo, predominan efectos beneficiosos, como mayor actividad enzimática oxidativa, volumen mitocondrial, metabolismo de ácidos grasos y densidad capilar (Bailey & Davies, 1997), junto con el incremento de Hb y masa eritrocitaria como respuesta primaria (Sinex & Chapman, 2015).

2.2.9. Mal de altura

La exposición a la altitud y a sus factores ambientales, tales como la disminución de la presión atmosférica, la disminución de la temperatura, la menor humedad y la mayor radiación UV, entre otros; dan origen a un grupo de patologías denominadas

enfermedades relacionadas con la altitud o altura. Cada año ascienden a estas zonas de altitud, más de 100 millones de personas, ya sea por motivos profesionales, turísticos, deportivos y/o religiosos (Chao et al., 1999; Gallagher & Hackett, 2004).

Según su manifestación en el tiempo, este grupo de enfermedades pueden clasificarse como agudas, subagudas y crónicas (Figura 3). Entre el 10% al 85% se ven afectados por el mal agudo de altura o mal agudo de montaña (MAM), siendo la forma más común dentro de las enfermedad producidas por la hipoxia (Garrido et al., 2020).

Se estima que el 5% de la población mundial reside de forma permanente en zonas de altitud y que alrededor de 140 millones de personas viven a gran altitud (más de 2500 m). Se estima que el 10% de ellos, se ven afectados por la forma subaguda del mal de montaña , llamada hipertensión pulmonar de gran altitud (HAPH) (Garrido et al., 2020). Esta enfermedad fue descrita inicialmente en 1932 por el médico peruano Alberto Hurtado siendo desarrollada años posteriores por la comunidad científica, caracterizándola por la presencia de la hipertrofia ventricular derecha en niños nativos de zonas andinas (Arias-Stella & Recavarren, 1962; Hurtado, 1932).

Por último, también se manifiesta la forma crónica llamada “Enfermedad de Monge”, descrita en 1925 por el médico peruano Carlos Monge, en cuyos estudios iniciales se encontró poliglobulia como característica común entre las etnias andinas estudiadas (Garrido et al., 2020). Esta condición actualmente se conoce como un síndrome clínico presente en residentes de zonas de gran altitud (>2500 m) y se caracteriza por eritrocitosis excesiva e hipoxemia (León-Velarde et al., 2005).

El término mal de altura, generalmente se reserva para tres enfermedades cerebrales y pulmonares que se desarrollan durante horas o días debido al ascenso a la gran altura como resultado de una exposición aguda a la hipoxia hipobárica y una falta aclimatación por parte del organismo (Bartsch & Bailey, 2014; Gallagher & Hackett, 2004), estas son conocidas colectivamente como: MAM, edema cerebral de gran altitud (ECA o HACE en inglés) y EPAA. La fuga capilar cerebral y el ECA son responsable de estos síndromes.

La morbilidad y la mortalidad asociadas con el mal de altura son significativas y son lamentables mortales en muchos casos a pesar de ser prevenibles (Gallagher & Hackett, 2004).

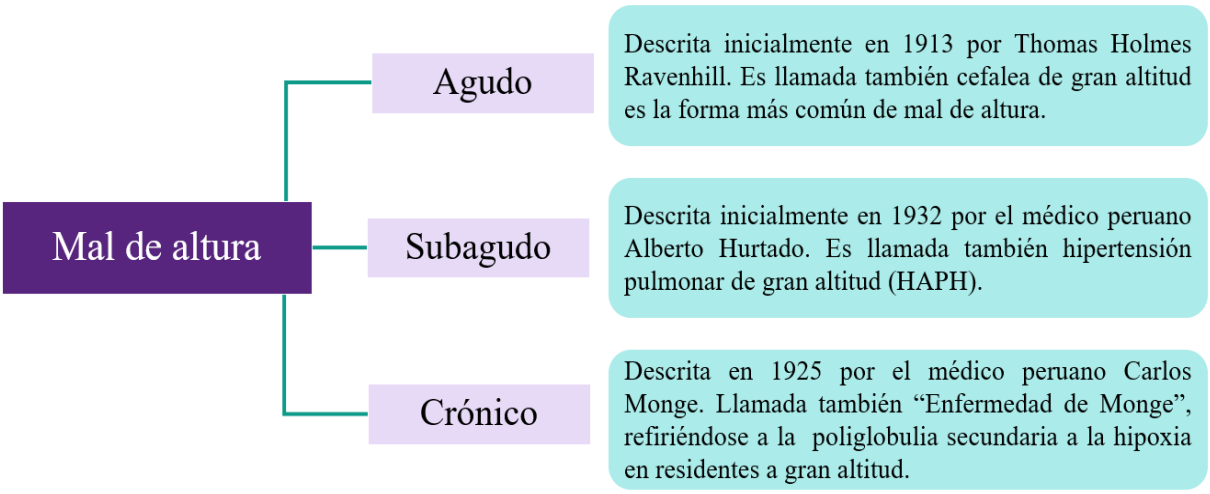

Figura 3: Clasificación del mal de altura, según el tiempo y duración de su manifestación.

2.2.10. Mal agudo de Montaña (MAM)

Si bien existen muchas descripciones antiguas de la sintomatología del MAM, esta fue clasificada clínicamente en 1913 por el médico británico Thomas Ravenhill (Garrido et al., 2020). Se define como la cefalea debida a un súbito aumento de altitud, pudiendo manifestar síntomas muy variados (Roach et al., 1993). Esta cefalea, principal síntoma, es bitemporal, pulsátil y se agudiza durante la noche y al despertar, siendo inicialmente muy parecida, admirablemente, a la de una resaca por consumo de alcohol (Paralikar & Paralikar, 2010).

2.2.10.1. Síntomas, signos, factores de riesgo y epidemiologia

Como ya se ha mencionado la cefalea a gran altitud es el síntoma principal del MAM o síndrome del mal de altura, pudiendo aparecer de forma aislada durante las primeras 24 horas tras exponerse a >2.500 m.s.n. m, sin aclimatación (Imray et al., 2010). También puede asociarse a anorexia, náuseas, insomnio, vómitos, mareos o fatiga excesiva (Imray et al., 2010; Roach et al., 1993).

El dolor suele ser leve a moderado, bilateral, frontal, frontoparietal o holocraneal, con carácter sordo u opresivo (Serrano-Dueñas, 2005; Silber et al., 2003). Empeora con ejercicio o movimientos cefálicos (Carod-Artal, 2014). Entre 30-75% presentan dolor pulsátil, más intenso en mujeres y en personas con antecedente de cefalea (Serrano-Dueñas, 2005; Silber et al., 2003). Aún no está esclarecida la relación entre la cefalea de gran altitud con la migraña episódica (Carod-Artal, 2014).

Puede presentarse al despertar o interrumpir el sueño, en cerca del 25% de casos (Carod-Artal, 2014), intensificándose durante la noche y contribuyendo al insomnio, segundo síntoma más frecuente (Imray et al., 2010). La alteración del sueño puede deberse a respiración periódica, cefalea intensa, mareos o disnea (Imray et al., 2010; Silber et al., 2003). A nivel respiratorio se observa tos seca y disnea en reposo o esfuerzo durante los primeros 2-5 días. Estos síntomas pueden progresar a disnea severa, esputo rosado, taquipnea, taquicardia e hipoxemia (Bärtsch et al., 2005).

El MAM es generalmente benigno, aunque signos neurológicos sugieren ECA, con cefalea intensa, ataxia, alteración mental y posible coma. El EPAA puede ocurrir en ~25% de casos con síntomas leves o incluso sin síntomas (Maggiorini, 2001). También pueden observarse conducta irracional, obnubilación, ataxia troncal, hemorragias retinianas y, raramente, déficits focales (Weil, 2004).

El principal factor de riesgo es el ascenso rápido (Carod-Artal, 2014; Imray et al., 2010). Antecedentes de migraña, ejercicio intenso y baja SaO_2 aumentan el riesgo entre 2 200-3 817 m (Burtscher et al., 2011). Los adultos mayores presentan menor incidencia que los jóvenes, posiblemente por atrofia cerebral. Además, se ha observado que un buen estado físico aparente no previene la aparición de cefalea (Burtscher et al., 2011; Carod-Artal, 2014).

Estudios realizados en nuestro país (Cusco a 3 350 m) sobre el desarrollo de síntomas compatibles con MAM en turistas extranjeros voluntarios, dentro de las 48 horas posteriores a su llegada al Perú, concluyeron que el 39% presentó MAM, el 34%

disminuyó la actividad física y el 34% aumentó la ingesta de líquidos. Asimismo, se señaló que la obesidad y el sexo femenino están asociados a un mayor riesgo de manifestación del cuadro clínico (Caravedo et al., 2022).

Se estima que la incidencia general del MAM a gran altitud, se encuentra entre un 45 a 95% (Carod-Artal, 2014). A 4 000 m o más, esta incidencia oscila entre el 50 % y el 65 %, dependiendo de la velocidad, el modo de ascenso y la altitud final alcanzada (Imray et al., 2010). Para personas que realizaron caminadas por encima de los 5 000 m, se han hallado tasas de casi el 50% (Carod-Artal, 2014).

En un estudio realizado a personas mayores (edad promedio = 69,8 años) que visitaron alturas de 2 500 m, solo el 16% reportó MAM. En comparación, entre las personas de aproximadamente 44 años, la incidencia fue del 20% al 25% a una altitud similar. Asimismo, las personas con enfermedad pulmonar subyacente presentaron una incidencia ligeramente mayor de MAM (Roach et al., 1995).

Finalmente, se puede determinar que existe una progresión entre las distintas manifestaciones clínicas de la cefalea de altitud, el MAM y el ECA. A su vez, los hallazgos relacionados con diversos mediadores químicos permiten clarificar de manera más precisa la patogenia de estas condiciones (Carod-Artal, 2014).

2.2.10.2. Mecanismos fisiopatológicos

La disminución de la presión atmosférica y de la PaO_2 en gran altitud, junto con variaciones geográficas como la cercanía a los polos y las masas de aire frío estratosférico por encima de la línea ecuatorial, comprimen el aire inferior y generan una atmósfera más densa en zonas ecuatoriales y templadas (Rodway et al., 2003). La reducción de la PaO_2 activa la RVH, produciendo hiperventilación y descenso de la $PaCO_2$, lo que estabiliza una alcalosis respiratoria en 24 a 48 horas, acompañada por mayor excreción renal de HCO_3^- (Rodway et al., 2003).

La hipoxia hipobárica sostenida conlleva a agravar las manifestaciones clínicas del ECA, ya sea por factores como la disminución del aporte de O_2, el patrón de respiración periódica y el ejercicio físico variablemente intenso, generando, en conjunto, el incremento de la permeabilidad capilar (Clarke, 2006). Este incremento también puede verse modulado por mediadores como HIF-1α y VEGF (Carod-Artal, 2014). Con el desarrollo del edema intracelular, la reducción de Na +, Cl − y agua en el espacio extracelular cerebral, se establece un nuevo gradiente de presión osmótica para estas moléculas a través de la barrera hematoencefálica (BHE), ocasionando el movimiento transvascular de Na+ y Cl− a través de canales iónicos y transportadores endoteliales específicos (Barrett et al., 2009; Bartsch & Bailey, 2014).

El aumento de la retención de Na^+, el incremento del FSC, la HP y la vasodilatación, esta última mediada por efectores complementarios como la liberación de óxido nítrico (ON), potencian la dilatación de los vasos cerebrales (Clarke, 2006; Hackett & Roach, 2001, Rodway et al., 2003). Se ha planteado la hipótesis de que este efecto ocurre a través de la activación del sistema trigémino vascular, en el que los axones del nervio del V par craneal se proyectan a los vasos sanguíneos meníngeos. (Sanchez del Rio & Moskowitz, 1999). Es importante señalar que el grado tonicidad de los vasos sanguíneos en situaciones de hipoxia pueden verse afectados, ya sea por las concentraciones de O_2 y CO_2, los niveles de adenosina a nivel cerebral, iones de K^+ y óxido nítrico sintetasa (NOS), lo que a su vez modula el ECA (Carod-Artal, 2014).

Los mecanismos que generan la vasodilatación encefálica, el edema vasogénico, el aumento de la presión intracraneal (PIC) y la distensión de las capas meníngeas, corresponden a etapas avanzadas del MAM (Garrido et al., 2020). Estas alteraciones pueden explicar la cefalea y otros síntomas, como náuseas y lasitud o cansancio. Además de ello, la intensidad de la cefalea estaría relacionada con la capacidad compensatoria del desplazamiento del LCR (Rodway et al., 2003).

Si este desplazamiento y la variación del volumen cerebral ocurren eficientemente, se ve disminuido el riesgo de desarrollar los signos del ECA del MAM, caracterizando así lo variable del cuadro clínico (Rodway et al., 2003). A pesar de la naturaleza reversible del

edema vasogénico, la conversión hemorrágica suele ser evidente en casos graves, lo que provoca una pérdida de la integridad de la BHE y la extravasación de eritrocitos hacia el parénquima cerebral (Bartsch & Bailey, 2014). Por su parte, el edema intracelular (o citotóxico) genera movimiento transcelular, mediado osmóticamente por iones y agua, desde el espacio extracelular cerebral hacia el intracelular (Barrett et al., 2009).

Las alteraciones hemodinámicas a gran altitud (Figura 4) generan VPH, la cual no es homogénea debido a ciertas particularidades en la respuesta del músculo liso en diferentes zonas del pulmón, así como a las diferencias anatómicas y, sobre todo, a la distribución de las arteriolas. Esto provoca un aumento de la presión y del flujo en las áreas perfundidas, lo que causa hipertensión pulmonar (HP) y el edema resultante (Barrett et al., 2009; Hackett & Roach, 2001).

Al igual que en la manifestación del ECA, las primeras horas de exposición a gran altitud son suficientes para la aparición del EPAA, aunque también se ha observado esta condición en residentes de grandes altitudes que regresan a niveles de baja altitud (Schoene, 2008). Las primeras evidencias médicas de este tipo de edema pulmonar se publicaron en nuestro país, y esta forma, también denominada EPAA de reentrada, se reconoce como un edema pulmonar asociado con signos electrográficos de sobrecarga del ventrículo derecho (Bärtsch et al., 2005).

La vasoconstricción desencadena la HAPH, modulando la respuesta en EPAA. La disminución de ON es un mecanismo central en la manifestación de HAPH, en interacción con las vías de la endotelina-1 (ET-1) y la prostaglandina I_2 (PG I_2), además de factores genéticos (Xu & Jing, 2009). Hasta ahora, clínicamente, la HAPH es inespecífica. La disnea de esfuerzo es el síntoma principal y los signos de insuficiencia cardíaca derecha suelen aparecer en fases avanzadas (Xu & Jing, 2009). En EPAA, las estructuras pulmonares presentan alta permeabilidad con fuga de proteínas y leucocitos, apoyando la hipótesis de edema por insuficiencia por estrés capilar pulmonar (Paralikar & Paralikar, 2010).

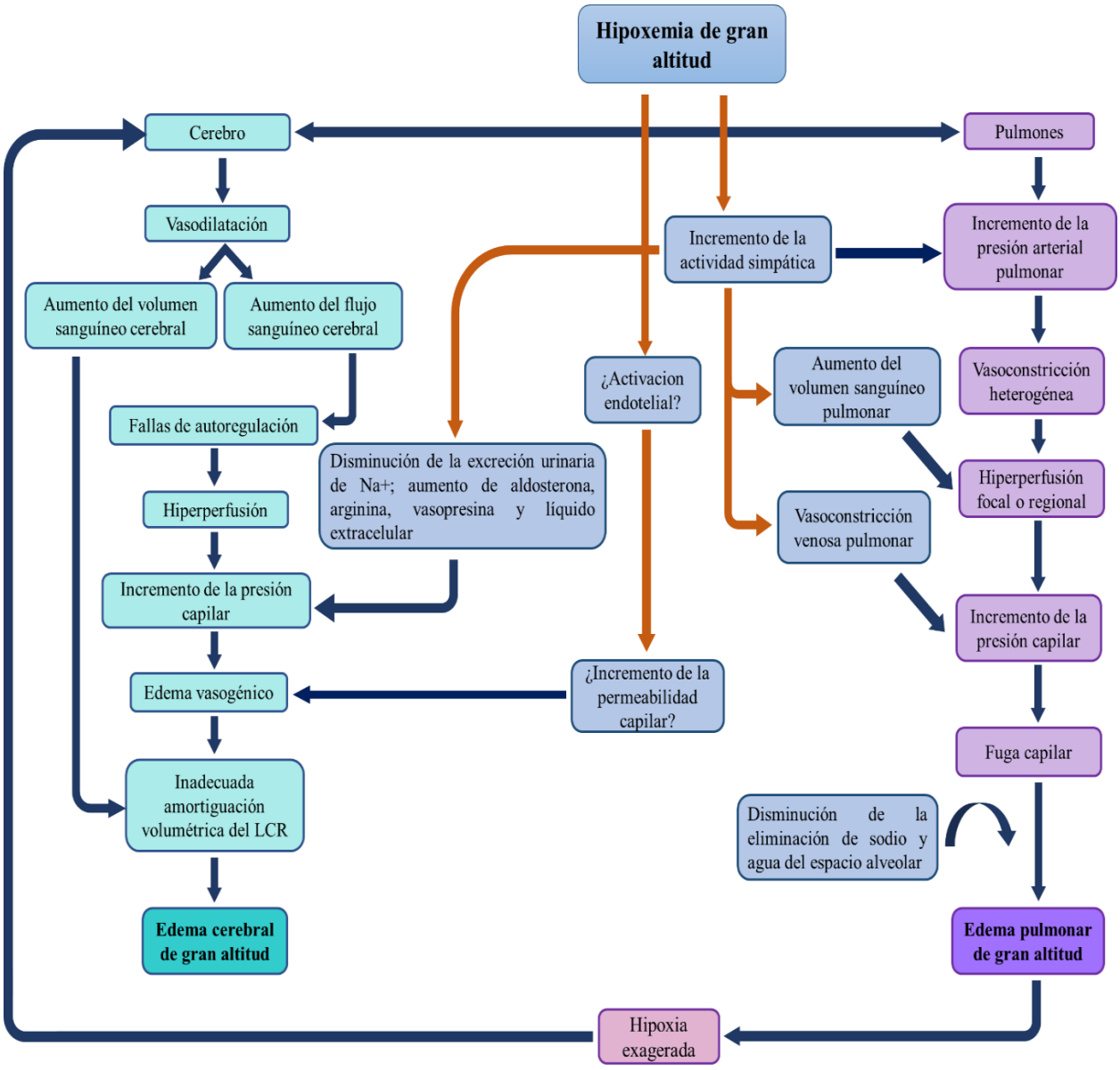

Figura 4: Patogenia propuesta del MAM (Hackett & Roach, 2001)

2.2.10.3. Síndrome cerebral

Las manifestaciones clínicas del MAM y el ECA se originan a nivel de las estructuras cerebrales (Matsuzawa et al., 1992), las cuales son críticamente sensibles a la hipoxemia y altamente dependientes de los ajustes en la circulación cerebral con el fin de optimizar el suministro de O_2 (Hackett & Roach, 2001; Weil, 2004). Ambas afecciones representan las alteraciones más notorias de una disfunción neurológica progresiva básicamente por cambios vasogénicos en diversas regiones cerebrales (Hackett et al., 1998). Los límites entre ambas condiciones siguen siendo confusos y el término MAM/ECA parece bastante adecuado (Gallagher & Hackett, 2004).

En el MAM, los síntomas pueden variar desde leves y autolimitados hasta cuadros graves con signos de alta peligrosidad, mientras que el ECA se considera la forma terminal del MAM (Gallagher & Hackett, 2004). Entre estas manifestaciones severas, la hernia cerebral representa uno de los desenlaces más graves, derivada de un aumento nocivo de la presión intracraneal (Hackett, 1999; Hackett & Roach, 2001).

Como es sabido, son numerosos los estudios sobre los mecanismos del MMA/ECA, pero hasta ahora no están totalmente dilucidados. Estudios en humanos, han obtenido mucha información a través de técnicas de neuroimágenes por resonancia magnética (RM), principalmente personas con MAM de grados moderados a graves y en otras con ECA. Estos estudios, revelan la presencia de regiones cerebrales con edema reversible en la sustancia blanca profunda y principalmente en el esplenio del cuerpo calloso, lo que sugiere un edema cerebral vasogénico y aumento de la circulación de la BHE (Hackett et al., 1998; Matsuzawa et al., 1992).

El mecanismo exacto por el cual aumenta la permeabilidad de la BHE, tampoco está totalmente esclarecido, pero podría estar relacionada a inducción de la sobreperfusión por la hipoxia y el incremento de la expresión de mediadores hemodinámicos, como el factor de VEGF y el ON (Hackett & Roach, 2001). También se sabe que la respuesta fisiológica compensatoria, repercute en la capacidad de respuesta a la inflamación cerebral, esta última, se ha propuesto como una posible explicación de la variabilidad en la susceptibilidad al MAM/ECA (Hackett, 1999).

La hipótesis del "ajuste apretado" sugiere que la susceptibilidad de un individuo al MAM/ECA depende de la disponibilidad del espacio intracraneal para compensar el aumento del edema a nivel de la BHE. Esta teoría ayudaría a explicar la naturaleza aparentemente aleatoria del MAM que puede evolucionar a un ECA. Bajo este modelo, la hipoxia induce la formación de radicales libres, causando daño en la bomba Na+/K+ ATPasa Na+/K+, con la consiguiente tumefacción de los astrocitos por estrés osmótico-oxidativo, induciendo al edema citotóxico. Sin embargo, ninguna de estas conjeturas se ha desarrollado del todo para lograr una comprensión completa del ECA (Jensen & Vincent, 2023).

Finalmente, las respuestas neurohormonales que generan la vasodilatación, también están determinadas por muchos otros mediadores, como este el caso de las citocinas reactivas y radicales libres, mientras que las respuestas hemodinámicas conducen a una sobreperfusión de los lechos cerebrales microvasculares, lo que conlleva a hipertensión intracraneal con presión capilar elevada y fuga capilar (Jensen & Vincent, 2023).

2.2.10.4. Volumen Cerebral

Los estudios que respaldan el concepto de que la hipoxia causa un incremento en el volumen cerebral son numerosos; no obstante, aún no se tiene una relación directa y exacta entre el incremento del volumen cerebral y MAM. Algunos autores argumentan que solamente cuando la capacidad de amortiguación es ineficiente, ocurre dicho incremento del volumen cerebral, provocando la aparición de MAM. Hasta ahora es bastante escasa la información sobre el vínculo entre el volumen cerebral y las mediciones de distensibilidad intracraneal y su relación con la capacidad de amortiguación del volumen intracraneal, razón por cual, estas hipótesis siguen sin comprobarse completamente (Imray et al., 2010).

En estudios con resonancia magnética se han detectado cambios muy pequeños en el volumen cerebral, incluso alrededor de 0.2 %, que aun así pueden tener impacto funcional debido a la limitada capacidad de compensación del encéfalo. Si bien se reconoce que la exposición a hipoxia incrementa el volumen cerebral, no está del todo claro cuánto contribuye este aumento al mal agudo de montaña. La evidencia disponible sugiere que dicho incremento se relaciona, al menos en parte, con la formación de edema cerebral, particularmente de origen vasogénico (Imray et al., 2010).

No está del todo claro si el edema cerebral es principalmente de origen intracelular o vasogénico, ni qué alcance desempeña en la fisiopatología completa del MAM (Imray et al., 2010), además de su relación con otros tipos de edema como el citotóxico (Kallenberg et al, 2007). Estudios comparados en hipoxia hipobárica reportaron edema vasogénico e intracelular combinado (Schoonman et al., 2008). Dado que bastante difícil realizar estudios de RM cerebral durante el inicio del MAM, es casi imposible saber si el edema

intracelular o el vasogénico preceden al otro, o si ambos ocurren simultáneamente con el inicio del cuadro clínico (Imray et al., 2010).

2.2.10.5. PIC y flujo sanguíneo cerebral

Los estudios generales del MAM y ECA grave han revelado que existe una elevada PIC durante dichos eventos. Se ha desarrollado la idea que la cefalea originada por los cambios en la hemodinámica cerebral, puede ocurrir solo cuando la capacidad de expansión o compliancia del cerebro se ven alteradas, generando el aumento de la PIC, además, de los cambios en el FSC y la PIC durante el inicio del MAM (Imray et al., 2010).

Ya se ha mencionado que la hipoxia provoca un aumento del FSC que suele normalizarse con la aclimatación. Aunque estudios de neuroimagen muestran este incremento en hipoxia aguda, algunos con Doppler transcraneal no lo confirman, y aún se desconoce su papel exacto en el MAM (Imray et al., 2010).

En un estudio realizado por Baumgartner et al. (1994), midieron el FSC y se observaron que era mayor en sujetos con MAM que en escaladores "sanos", con una correlación directa entre el FSC y la gravedad de los síntomas. En otro estudio similar realizado por Otis et al. (1989), no se respaldaron completamente estos hallazgos. Si bien la compleja interacción entre la hipoxia y la hipocapnia presente en humanos con hipoxia aguda puede presentar una situación que se registra en la imagenología cerebral, aún no se tiene estudios de imagenología cerebral que hayan abordado la perfusión cerebral global en el MAM (Imray et al., 2010).

Por otro lado, el uso de modelos animales para analizar los cambios en el flujo sanguíneo y la presión cerebral en el MAM y el ECA ha evolucionado progresivamente. Los estudios pioneros de Krasney (1990, 1997) en ovejas, aportaron información valiosa sobre la hemodinámica y la formación de edemas cerebrales; no obstante, su aplicación no logró consolidarse debido a diferencias metodológicas y conceptuales entre investigadores. Algunos autores incluso señalaron las dificultades de evaluar síntomas como la cefalea en animales, lo que limitó la comprensión de su fisiopatología. A pesar de estas

limitaciones, la investigación en este campo continuó avanzando con el tiempo (Goadsby. 2009; Krasney et al., 1990).

En modelos experimentales con ratas Wistar sometidas a hipoxia hipobárica (equivalente a 0.5 atm), se estudiaron los cambios en la temperatura y la permeabilidad de la BHE a los días 1, 2 y 7. Los resultados mostraron que la permeabilidad permaneció estable durante la hipoxia aguda a temperatura ambiente, pero aumentó cuando se combinó con hipertensión, disminuyendo posteriormente al 50% entre las 24 y 48 horas y retornando a valores basales al séptimo día. Estos hallazgos sugieren que la hipoxia aguda puede inducir una alteración transitoria y reversible de la BHE como parte del proceso adaptativo (Natah et al., 2009).

Los modelos animales, sobre todo en roedores, vienen siendo muy usados con gran frecuencia en los últimos años; con ello, se puede aportar mucha información sobre las lesiones anatomopatológicas del MAM y del ECA, además de la respuesta molecular, estrés oxidativo y mecanismos génicos a nivel de las estructuras cerebrales.

2.2.11. Hipoxia y estrés oxidativo

Cuando los mecanismos fisiológicos de defensa por parte de nuestro organismo no son suficientemente eficientes, ocurre un desequilibrio entre la formación de los radicales libres y la capacidad antioxidante que tenemos, motivo por el cual, se disparan las especies reactivas de oxígeno (ROS), como el superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo (OH-), incrementado así, el estado de estrés oxidativo (Chao et al., 1999).

Estas ROS se generan cotidianamente como subproductos del metabolismo aeróbico, la exposición a la radiación UV, la hipoxia, exposición a la contaminación y otros factores de estrés (Jenkins & Goldfarb, 1993). El estrés oxidativo puede aumentar durante la actividad física intensa y la exposición a la gran altitud (Jenkins & Goldfarb, 1993); esto debido a un incremento de un 10 a 15 veces por parte consumo de O_2 necesario para satisfacer el incremento de las demandas energéticas (Clarkson, 1995).

La inducción de las ROS está intimamente relacionada con diversos procesos de regulación fisiológica celular, como es el caso la diferenciación celular, el crecimiento y la apoptosis, así también a nivel del sistema inmunológico (Brieger et al., 2012), enfatizando que actualmente se reconocen mediadores muy relevantes de señalización y segundos mensajeros que optimizan la vasorreactividad de la arteria pulmonar, por ejemplo (Ward, 2017). Sin embargo, cuando estos niveles están desequilibrados y no son compensados por los sistemas antioxidantes endógenos, como el superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT), el glutatión peroxidasa/reductasa (GSH-Px), la peroxirredoxina/tiorredoxina (PRX/Trx) o las metaloproteasas (MMP), el daño producido por el estrés oxidativo se intensifica (Peoples et al., 2019).

Además, el estrés oxidativo puede afectar la integridad de las membranas celulares, disminuyendo su fluidez. Esto puede causar tumefacción celular, alterar el balance de los gradientes iónicos y provocar inflamación tisular, daño en las estructuras del ADN, así como cambios en la induccion génica y síntesis proteica. Tales alteraciones pueden generar múltiples estados de disfunción homeostática, como fatiga y disminución de la regeneración tisular ante lesiones locales (Alessio, 1993; Pyne, 1994).

En actividades realizadas a gran altitud, es mayor el estrés oxidativo, comparados a los que se presenta al nivel del mar; ya que se ve influenciado por la interaccion con muchos otros múltiples factores ambientales a esta altitud (Chao et al., 1999, Simon-Schnass, 1996).

El desarrollo de patologías como ACE, EPAA, MAM o la forma crónica del mal de montaña, involucran la acción de diversas moléculas y rutas que podrían estar relacionadas con el estrés oxidativo. Muchos estudios han demostrado que la exposición aguda, intermitente y crónica a la hipoxia hipobárica inducen estrés oxidativo, causando alteraciones en estas rutas moleculares, además de sus componentes celulares, tal cual se evidencia en el aumento del biomarcador malondialdehído (MDA) y las disminuciones en la actividad antioxidante del (SOD y el GSH-Px (Alessio, 1993). Asimismo, en otros estudios, se indicó que la peroxidación eritrocitaria incrementó a gran altitud (5100 m) (Simon-Schnass, 1996).

En estudios donde se evaluaron indicadores de estrés oxidativo, como el pentano en el aliento (BP), 8-hidroxidesoxiguanosina (8-OHdG), la capacidad de absorción de radicales de O_2 (ORAC), 4-hidroxinonenal (4-HNE), malondialdehído (MDA) y peróxidos lipídicos (LPO) en muestras de aliento y orina, a una altura aproximadamente de 3000 m, tanto en grupos placebo y otros 4 con con suplementación de antioxidantes; los resultados indicaron que los grupo que recibieron la mezcla antioxidante presentaron un menor incremento de la PA sistémica en comparación a quienes recibieron suplementos antioxidantes individuales (Chao et al., 1999).

Dentro de las alteraciones celulares producidas por el estrés oxidativo, la hipoxia puede afectar diversas estructuras celulares (ADN, proteínas, lípidos y orgánulos), lo que puede conducir potencialmente a la muerte celular (Richardson & Schadt, 2014). Esto puede ocurrir por disfunción del retículo endoplásmico (Amodio et al., 2018), resultando en la acumulación de proteínas desnaturalizadas y/o mal plegadas; esta desregulación contribuye a la aceleración de procesos asociados a las vías inflamatorias (Marciniak & Ron, 2006). A nivel de las membranas, las alteraciones generan una pequeña fuga de electrones (e^-) (1–2 %) en la cadena de transporte, con la consiguiente reducción del O_2 molecular a O_2^- (Clarkson, 1995).

Existe abundante evidencia que demuestra una relación entre el estrés oxidativo y la exposición a la hipoxia hipobárica (Lüneburg et al., 2016; Peña et al., 2022). En un estudio de campo, se observó una sobreproducción de ROS en sangre capilar y el consiguiente daño oxidativo a proteínas, lípidos y ADN, repercutiendo en el estado inflamatorio y provocando disfunción renal transitoria durante los 14 días, debido a una incapacidad antioxidante. La exposición a gran altitud induce un estado hipóxico durante las fases aguda y subaguda, acompañado de mecanismos de adaptación molecular indicativos de aclimatación (Mrakic-Sposta et al., 2021).

Las diferencias genéticas en las poblaciones étnicas a gran altitud son muy intrigantes hasta la fecha y deben seguir estudiándose, si bien es cierto que existen diferencias en los mecanismos oxidativos y antioxidantes entre estas poblaciones aún no esta del todo esclarecido (Peña et al., 2022). Se ha relacionado que el aumento de las ROS contribuye

de manera directa o indirecta al desarrollo de las patologías asociadas a la gran altitud (Brieger et al., 2012).

2.2.12. MAM, ECA y estrés oxidativo

El nivel de daño por estrés oxidativo desencadenado por la exposición aguda a la hipoxia repercute en muchos órganos del cuerpo, especialmente en el corazón y el cerebro (Jing et al., 2021). El cerebro es particularmente susceptible debido a su alto contenido de ácidos grasos polinsaturados, la elevada utilización de O_2 por su alta tasa metabólica, una deficiente defensa antioxidante (principalmente en GPx y CAT), y un contenido significativo de metales de transición como cobre e hierro en varias regiones, lo que facilita la formación de radicales hidroxilo (OH^-) (Nelson & Cox, 2004). Además, la capacidad de restauración celular es limitada, dada la particularidad de las neuronas y glías diferenciadas (Zauner et al., 2002). Es por ello que el déficit de O_2 es capaz de desencadenar eventos que repercutan en la homeostasis cerebral (Figura 5).

El incremento en la producción de ROS a nivel cerebral, ocasiona la peroxidación de lípidos, proteínas y ADN, lo que desata múltiples disfunciones fisiológicas neuronales, llegando a causar apoptosis por acción de caspasas y necrosis neuronal en los casos más severos (Turner et al., 2021). Todos estos mediados moleculares se consideran factores patogénicos para el desarrollo del MAM (Peña et al., 2022).

Las alteraciones cerebrales encontradas en el ECA son causadas por el efecto del aumento en el líquido cerebral ya sea de origen iónico y/o vasogénico (Turner et al., 2021), están relacionadas al aumento de los niveles de las ROS durante la exposición aguda a la gran altitud (Peña et al., 2022). En muchos estudios se ha concluido que los radicales libres pueden dañar las células endoteliales de la BHE, causando edema extracelular (Chan et al., 1984), lo cual, influye en la señalización de la patogénesis tanto del MAM como del ACE (Bailey et al., 2001).

A fin de evaluar el rol de los radicales libres en estas enfermedades, muchos investigadores utilizaron ratas a las cuales se les suministró antioxidantes como pretratamiento antes de la exposición aguda a hipoxia hipobárica (a un nivel de 9 144 m,

durante 5 h) (Purushothaman et al., 2008). Los resultados mostraron que este pretratamiento antioxidante protegió los cerebros de los roedores contra la fuga transvascular (permeabilidad alterada de la membrana celular), al atenuar la generación de radicales libres y MDA en el cerebro y aumentar los niveles antioxidantes de GSH, GPx y SOD (Purushothaman et al., 2008).

Este hallazgo fue corroborado en otros estudios, que desmostraron que las ratas expuestas a condiciones simuladas de hipoxia hipobárica (7 620 m por 48 h) presentaron ACE con niveles aumentados de ROS y MDA además de niveles reducidos de antioxidantes (SOD y GPx) en el tejido cerebral (Himadri et al., 2010). Se postula que el aumento del estrés oxidativo podría sobrerregular el factor nuclear kappa B (NF-κB), como lo reportaron estudios en cerebros de ratas expuestas a hipoxia hipobárica aguda (Himadri et al., 2010). Además, se sabe que NF-κB puede contribuir a la fuga transvascular en el cerebro de la rata al sobreregular la expresión de citocinas proinflamatorias, principalmente interleucina-6 (IL-6), interleucina-1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) (Himadri et al., 2010).

En estudios del hipocampo y la corteza prefrontal bajo hipoxia hipobárica simulada (6 100 m s. n. m.) evaluados a los 3, 7, 14 y 21 días, se observaron cambios dendríticos asociados a la memoria espacial. Se registró una reducción significativa de la arborización dendrítica y un aumento de neuronas dañadas hasta el día 14, seguidos de una recuperación estructural al día 21. Paralelamente, la memoria espacial se deterioró en los primeros días, mostró ligera mejoría al día 14 y una recuperación notable al día 21. Estos resultados sugieren que la hipoxia hipobárica induce plasticidad dendrítica en las neuronas piramidales del hipocampo y la corteza prefrontal, favoreciendo la recuperación e incluso la mejora de la memoria espacial con la exposición prolongada (Maiti et al., 2008).

En otros estudios con tejidos de cerebro de ratas expuestas a condiciones de altitud simuladas (6 100 m.), el estrés oxidativo está involucrado en el deterioro de la memoria a gran altitud, tras la inducción de ROS en el hipocampo, la corteza y el cuerpo estriado del cerebro de ratas. Los radicales libres, los niveles de ON, la inmunorreactividad de

nNOS (nNOS-IR), la expresión de nNOS, la neurodegeneración y la fragmentación del ADN aumentaron en el hipocampo, la corteza y el cuerpo estriado tras la exposición a la hipoxia. Específicamente, después de 7 y 14 días de exposición, estos marcadores mostraron incrementos significativos en comparación con los niveles observados a los 3 y 21 días de exposición a la gran altitud (Maiti et al., 2010).

El cerebro posee una capacidad antioxidante limitada, lo que lo vuelve especialmente susceptible al estrés hipóxico. En modelos de ratas sometidas a hipoxia hipobárica crónica simulada (6100 m), se evidenció un incremento en la generación de radicales libres, la peroxidación lipídica y la actividad de lactato deshidrogenasa, más acentuado al séptimo día de exposición. De forma paralela, se redujeron los niveles de defensas antioxidantes como GSH, GPx, GR y SOD en corteza, hipocampo y cuerpo estriado (Maiti et al., 2006). Estos resultados indican que el hipocampo presenta mayor vulnerabilidad, sugiriendo una afectación diferencial del equilibrio antioxidante entre las distintas regiones cerebrales (Maiti et al., 2006).

Como se ha mencionado anteriormente, los síntomas clínicos del MAM están estrechamente vinculados con la capacidad antioxidante del organismo (Peña et al., 2022). Tang et al. (2018), en un estudio realizado a 3500 m reportaron en 261 participantes una disminución de la actividad plasmática de SOD durante las primeras 24 horas, lo que sugiere una relación directa entre esta reducción y la severidad del MAM. Por su parte, experimentos en ratas expuestas a hipoxia hipobárica aguda (7 600 m) demostraron que el tratamiento con ganglíosido GM1, un esfingolípido con efectos neuroprotectores, mitigó la gravedad del ECA en un lapso similar (24h). Este beneficio se asoció con menores niveles de ROS y MDA, junto con un aumento de SOD y GSH en el cerebro. Además, el GM1 redujo la inducción de citocinas proinflamatorias como la interleucina-1 beta (IL-1β), TNF-α e IL-6, tanto en suero como en tejido cerebral (Gong et al., 2018).

La repercusión de la hipoxia cerebral influye en el equilibrio redox a través de la alteración de la homeostasis del Ca^{+2}. En condiciones normales, las neuronas mantienen un bajo nivel intracelular de Ca^{+2} libre (0,1–0,5 μM) frente a altas concentraciones

extracelulares (~1 mM), gracias a la regulación de los canales de calcio dependientes de voltaje (VDCC) y de los canales activados por receptores o ligandos (ROC), ambos sensibles al O_2. Entre estos VDCC se incluyen los tipos L, P/Q, N, R y T; mientras que los ROC comprenden receptores de glutamato como NMDA, AMPA y kainato (Kawamoto et al., 2012)

Existe una estrecha relación entre el metabolismo oxidativo y la densidad microvascular. Se ha indicado que las áreas corticales no primarias son similares en la arquitectura microvascular y tienen una densidad menor que las áreas visuales, somatosensoriales o auditivas primarias (Schmid et al., 2019). Los canales de tipo T se distribuyen principalmente en los cuerpos celulares y las dendritas de las neuronas en el bulbo olfatorio, la amígdala, la corteza cerebelosa, el hipocampo, el tálamo, el hipotálamo y el cuerpo estriado (Kawamoto et al., 2012).

Por ulitmo, se ha demostrado que las respuestas oxidativas y antioxidantes varían entre grupos étnicos. Por ejemplo, la población Sherpa del Tíbet presenta niveles más bajos de Hb y mayor SaO_2 en comparación con quienes viven al nivel del mar (Beall, 2003). Horscroft et al. (2017) señalaron que los Sherpas muestran menor oxidación de ácidos grasos y mayor protección frente al estrés oxidativo en el músculo esquelético. Del mismo modo, Julian et al. (2012) encontraron diferencias en la actividad de la SOD y la catalasa durante la gestación en mujeres andinas frente a gestantes europeas expuestas a condiciones de gran altitud (3 600–4 100 m).

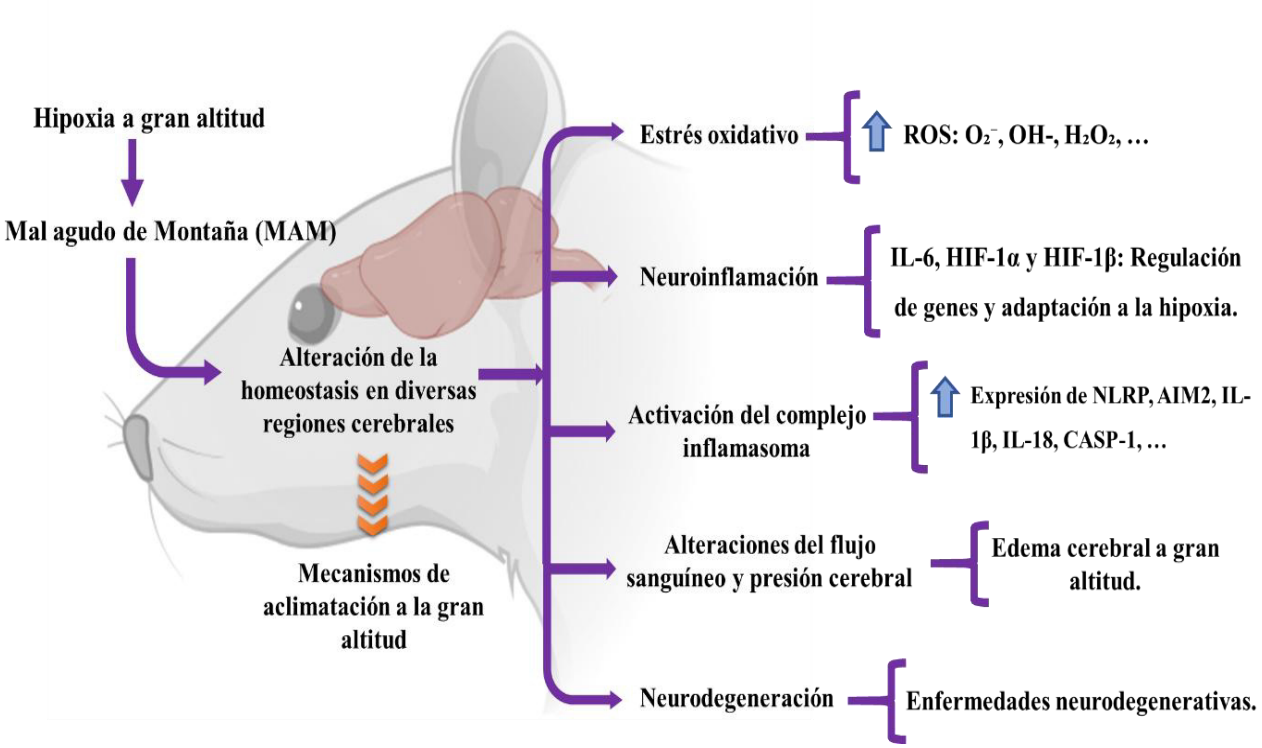

Figura 5: Efecto de la hipoxia de gran altitud en la neuroinflamacion, activación del complejo inflamasoma y otros mediadores.

2.2.13. Inmunidad e inflamación

La inflamación es una respuesta inmunitaria de tipo innata conservada evolutivamente, esto ocurre como consecuencia a la exposición a estímulos dañinos, como patógenos, células muertas, sustancias irritantes, entre otros; además, se encuentra regulada por el huésped. Una inflamación insuficiente puede provocar una infección persistente por patógenos, mientras que una inflamación excesiva puede causar enfermedades inflamatorias crónicas o sistémicas (Guo et al., 2015; Martinon et al, 2002). En los mamíferos, incluido el ser humano, el sistema inmunitario innato está compuesto por células que inician la respuesta frente a noxas, como macrófagos, células dendríticas y otras presentadoras de antígenos, que comunican la presencia del patógeno a los linfocitos B y T del sistema adaptativo (Guo et al., 2015; Koch & Radtke, 2011).

Los linfocitos poseen diversos receptores de antígenos (Ag) capaces de reconocer materiales extraños, resultado de continuos reordenamientos génicos que permiten al organismo identificar casi cualquier tipo de estas moléculas (Koch & Radtke, 2011). Las células del sistema innato reconocen patógenos mediante un conjunto fijo de receptores

de reconocimiento de patrones (PRR) codificados en la línea germinal, activando así los mecanismos inflamatorios (Koch & Radtke, 2011).

Estos PRR se agrupan en distintas familias. Estos receptores pueden identificar múltiples patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) (Takeuchi & Akira, 2010), como ácidos nucleicos, componentes de la pared celular u otras estructuras microbianas, así como sistemas de secreción bacteriana o factores microbianos conservados (Lamkanfi & Dixit, 2014).

Además de PAMP, los PRR también detectan sustancias liberadas por células dañadas, moribundas o senescentes durante procesos inflamatorios, conocidas como patrones moleculares asociados al daño (DAMP) (Julian et al., 2012, Takeuchi & Akira, 2010). Entre los DAMP se incluyen proteínas inducidas por estrés como las de choque térmico (HSP), cristales de urato monosódico (MSU), fragmentos de matriz extracelular, componentes mitocondriales (ADNmt, péptidos formilados, ATP) y proteínas nucleares como las histonas (Abdulkhaleq et al., 2018; Zindel & Kubes, 2020).

Por otro lado, según su localización subcelular, podemos sub dividir a estos PRR en dos clases principales. Primero, tenemos a los receptores tipo Toll (TLR) y los receptores de lectina de tipo C (CLR); ambos son proteínas transmembrana que se encuentran en la membrana plasmática y los endosomas, donde pueden realizar la detección tanto de los PAMP y los DAMP en el medio extracelular (Takeuchi & Akira, 2010). La segunda clase de PRR reside en compartimentos intracelulares e incluyen a los receptores similares al gen I inducible por ácido retinoico, llamados RIG-I (RLR), los receptores similares a la proteína ausente en el melanoma 2 (AIM2 o ALR) y las proteínas con dominio de unión a nucleótidos y que contienen repeticiones ricas en leucina (NOD o NLR) (Castro-Gomez & Heneka, 2024). A esta segunda clase de PRR se suman las proteínas que detectan el ADN a nivel del citosol, llamados sensores de ADN citosólico (CDS) (Castro-Gomez & Heneka, 2024), que desencadenan la producción de interferón tipo I (IFN-I) (Lamkanfi & Dixit, 2014).

La activación de los distintos PRR desencadena rutas de señalización intracelular de tipo transcripcional y no transcripcional. La primera estimula la transcripción, síntesis y liberación de mediadores de la inmunidad innata (Abdulkhaleq et al., 2018; Castro-Gomez & Heneka, 2024), como el factor nuclear kB (NF-κB) (Guo et al., 2015), citocinas proinflamatorias (incluyendo TNF-α e IL-1β), aminas vasoactivas (histamina y serotonina), ON, ROS, neuropéptidos, metabolitos del ácido araquidónico (prostaglandinas y leucotrienos) (Zindel & Kubes, 2020), interferones tipo I (IFN-α e IFN-β), la proteína activadora 1 (AP-1) (Lamkanfi & Dixit, 2014), factores del complemento y de crecimiento (Abdulkhaleq et al., 2018), además de los factores reguladores del interferón (IRF) (Guo et al., 2015). Cabe mencionar que la inflamación inducida por DAMP se denomina inflamación estéril cuando ocurre en ausencia de patógenos (Guo et al., 2015).

Por su parte, las vías no transcripcionales median procesos como la fagocitosis, autofagia, muerte celular y el procesamiento de citocinas (Castro-Gomez & Heneka, 2024). Las plaquetas y las rutas inflamatorias también desempeñan un papel temprano en la respuesta frente a lesiones tisulares (Zindel & Kubes, 2020), generando un entorno que limita infecciones e inicia la reparación del tejido dañado (Abdulkhaleq et al., 2018). Diversas células inmunes, como mastocitos, basófilos, macrófagos, células dendríticas y linfoides innatas, junto con células no inmunitarias centinelas en distintos tejidos, son capaces de reconocer y responder a los DAMP (Abdulkhaleq et al., 2018; Zindel & Kubes, 2020).

Un subcojunto de NLR y ALR activan mecanismos defensivos específicos mediante el ensamblaje de complejos proteicos citosólicos conocidos como inflamasomas, cuya oligomerización permite la activación de caspasas proinflamatorias (Martinon et al, 2002). Recientes estudios han aclarado las vías de señalización y la estructura de los inflamasomas, destacando su papel en enfermedades inflamatorias como las neurodegenerativas y metabólicas. Estos complejos pueden actuar como desencadenantes o amplificadores de la respuesta inflamatoria, lo que los convierte en potenciales blancos terapéuticos (Guo et al., 2015).

2.2.14. Complejo Inflamasoma

El término inflamasoma fue acuñado por Jürg Tschopp y su equipo de investigación en 2002. Se trata de un complejo proteico de alto peso molecular los cuales se ensamblan a nivel del citosol de las células inmunitarias activadas tras la detección de PAMP o DAMP por un subconjunto de NLR y ALR, lo que conduce a su oligomerización (Lamkanfi & Dixit, 2014). Estos inflamasomas regulan la activación de las caspasas inflamatorias (Martinon et al., 2002) y desempeñan un papel clave en la mediación de la respuesta inmune del sistema innato (Guo et al., 2015).

Los NLR (NOD) se componen de 22 genes humanos y muchos más genes murinos debido a la expansión génica desde el último ancestro común. La familia NLR se caracteriza por la presencia de un dominio central de unión a nucleótidos y oligomerización (NACHT), comúnmente flanqueado por repeticiones ricas en leucina (LRR) en el extremo C terminal y dominios de reclutamiento de caspasas (CARD) o la enzima inflamatoria pirina (PYD) en el extremo N terminal (Schroder & Tschopp, 2010).

Se plantea que los LRR funcionan en la detección de ligandos y la autorregulación, mientras que los dominios CARD y PYD median las interacciones homotípicas (proteína-proteína) para la señalización posterior. El dominio NACHT (el único dominio común a todos los miembros de la familia NLR), permite la activación del complejo de señalización mediante oligomerización dependiente de ATP (Schroder & Tschopp, 2010). Hasta la actualidad, se ha confirmado que 5 proteínas receptoras ensamblan inflamasomas, las cuales incluyen NLRP1 (L), NLRP3 y NLRC4, así como las proteínas ausentes en el melanoma 2 (AIM2) y PYD (Broz & Dixit, 2016).

El complejo inflamasoma está compuesto por una molécula sensora, una proteína adaptadora y finalmente una caspasa inflamatoria. La molécula sensora es típicamente es el NLR, la cual detecta estímulos inflamatorios. La molécula adaptadora, conocida como ASC (del inglés, Apoptosis-associated Speck-like protein), facilita la asociación entre la molécula sensora y la caspasa, que generalmente es la caspasa-1 (CASP-1) (Halff et al., 2012). Esta CASP-1, genera la activación de citocinas en su estado zimógeno como la pro-IL-1β y la pro-interleucina-18 (pro-IL-18) en proteasas enzimáticamente activas o

proinflamatorias, como la IL-1β e interleucina-18 (IL-18) (Halff et al., 2012; Lamkanfi & Dixit, 2014), a nivel del PYD en el N-terminal y un dominio CARD en su C-terminal (Wen et al., 2023). Es por ello que el ensamblaje del inflamasoma esta mediado por la interacción de los dominios de las proteínas pertenecientes a la superfamilia de muerte (Figura 6), la cual está comprendida por subfamilias las cuales presentan un dominio de muerte (DD), dominio efector de muerte, dominio CARD y PYD (Halff et al., 2012).

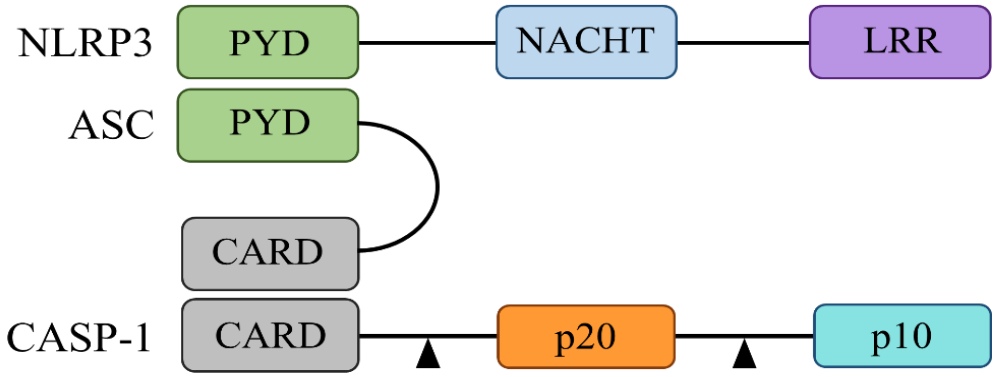

Figura 6: Estructura del inflamasoma NLRP3 (Schroder & Tschopp, 2010).

El dominio LRR del C terminal, presente en algunos miembros de la subfamilia NLRP, como NLRP1 y NLRP3, están involucradas en reconocimiento del ligando (PAMP o DAMP), induciendo el estado activo del NLR. Una vez activo, el dominio central NACHT y el dominio PYD N-terminal empiezan la oligomerización a través del reclutamiento de ASC (la cual presenta un PYD en el N terminal y un CARD en su C terminal), este reclutamiento conduce a la agrupación y presentación del PYD para la interacción homotípica con la ASC, luego el dominio CARD recluta a la procaspasa-1 a nivel de su CARD, como es el caso del NLRP3 (Schroder & Tschopp, 2010).

La agrupación de la procaspasa-1 permite la autoescisión y la formación del tetrámero p10/p20 de la CASP-1 (forma activa), generando la activación de citocinas como la IL-1β para inducir a más moléculas activas; una vez activas, estas se secretan junto con la CASP-1 (Schroder & Tschopp, 2010). También la CASP-1 también puede escindir a la pro-IL-18, generando su forma activa IL-18 (Wen et al., 2023). Por otro lado, también se ha postulado que la ASC se autoasocia a través de sus dominios PYD y CARD al NLR.

Por su parte, el ensamblaje de la ASC induce la activación de las rutas apoptóticas (Halff et al., 2012).

La IL-1β activa, activa la inducción de genes que controlan la fiebre, el umbral del dolor, la vasodilatación y la hipotensión, y su recepción provoca una respuesta de las células endoteliales que facilita la infiltración de células inmunitarias en los tejidos infectados o dañados. La IL-18 es necesaria para la producción de interferón-gamma (IFN-γ) la cual es un coestimulante, mediador de la inmunidad adaptativa (Dinarello, 2009). La CASP-1 también escinde la gasdermina-D (GSDMD), lo que permite que el dominio N-terminal de GSDMD forme poros en la membrana plasmática, desencadenando así una forma lítica y proinflamatoria de muerte celular, denominada piroptosis (Kelley et al., 2019).

Puede haber otras vías menos bien caracterizadas, como NLRP6, NLRP7, NLRP12, RIG-I y la proteína 16 inducible por IFNγ, que se ha informado que promueven la activación de la CASP-1 (Broz & Dixit, 2016). Como consecuencia de las diferencias estructurales de los dominios entre NLRP1 y NLRP3, los componentes mínimos del inflamasoma NLRP1 son ligeramente diferentes a los de su homólogo NLRP3. NLRP1 contiene una extensión C-terminal que alberga un dominio CARD, que puede interactuar directamente con la proCASP-1 y evitar la necesidad de ASC. Sin embargo, la inclusión de ASC en el complejo incrementa la actividad del inflamasoma NLRP1 humano (Castro-Gomez & Heneka, 2024).

A diferencia de NLRP1 humano, los ortólogos murinos de NLRP1 carecen de dominios PYD funcionales y se predice que no pueden interactuar con ASC. En macrófagos de ratón, la proteína ASC parece ser prescindible para la activación de la CASP-1 por NLRP1b. Además de la CASP-1, NLRP1 también interactúa con la CASP-5, lo que puede contribuir al procesamiento de IL-1 en células humanas. Los mecanismos exactos de activación de NLRP1 siguen siendo desconocidos, pero, al igual que para NLRP3, el eflujo de K+ parece ser esencial para el inicio de la activación como se detallará líneas abajo (Castro-Gomez & Heneka, 2024).

2.2.15. Activación inicial del complejo inflamasoma

Se considera que la presencia de activadores de NLRP3 por sí sola no basta para inducir dicha activación, ya que requiere una señal de cebado previa, conocida como señal 1 o etapa de preparación (Kelley et al., 2019). En macrófagos, estímulos como ligandos de receptores tipo Toll, NLRs (NOD1 y NOD2) o receptores de citocinas activan al factor de transcripción NF-κB, que regula positivamente la inducción de NLRP3. Esto es esencial, pues las concentraciones basales de NLRP3 en reposo son insuficientes para inducir su activación, y la pro-IL-1β no se expresa constitutivamente en estas células (Bauernfeind et al., 2009).

Tras esta fase, NLRP3 puede activarse por diversos ligandos, denominados señal 2 o fase de activación, como ATP, ionóforos de K^+, grupos hemo, partículas sólidas, ARN patogénico, toxinas o componentes microbianos. Aunque NLRP3 no interactúa directamente con estos agonistas, se sugiere que todos convergen en una vía común que desencadena la activación del complejo inflamatorio (Kelley et al., 2019).

Además, estudios sobre diferentes tipos de inflamasomas han identificado múltiples factores celulares que son esenciales para la activación de NLRP3, incluyendo los cambios en los flujos iónicos, la disfunción mitocondrial, la producción de ROS y el daño lisosomal (Kelley et al., 2019; Martinon et al., 2002). Basándose en el modelo clásico del inflamasoma NLRP3, estas observaciones permiten delinear las rutas moleculares que coordinan la activación de este complejo multiproteico (Figura 7) (Schroder & Tschopp, 2010):

a) Los elevados niveles de ATP extracelular o la ribosilación del ADP activan el canal iónico purinérgico P2X7, lo que genera un eflujo de K^+ reduciendo su concentración intracelular desde 150 mM hasta cerca de 70 mM aproximadamente (Jin & Flavell, 2010; Schroder & Tschopp, 2010). Esto induce el reclutamiento progresivo del hemicanal de pannexina-1 en la membrana, el cual, forma un gran poro por donde pueden entrar moléculas agonistas de NLRP3 al citosol, como los lipopolisacáridos bacterianos (LPS), desencadenando la activación del inflamasoma. Además, se ha demostrado que ciertas moléculas bacterianas pueden activar el inflamasoma NLRP3 a través de pannexina-1 sin

requerir la señalización mediada por TLR, lo que conduce a la activación de CASP-1 y la liberación de IL-1β. Estos hallazgos respaldan la existencia de una vía alternativa para el reconocimiento de productos microbianos (Kanneganti et al., 2007).

No obstante, la amplia diversidad estructural de los agonistas de NLRP3 cuestiona que exista una interacción directa única este NLRP3 y todos sus activadores. Asimismo, se sabe que diversas alteraciones en las concentraciones iónicas intracelulares contribuyen a la activación del inflamasoma (Jin & Flavell, 2010). Este mecanismo suele observarse en células que experimentan necrosis o apoptosis como señal de alarma o peligro (Schroder & Tschopp, 2010).

Asimismo, estudios de inflamasomas en el sistema nervioso central (SNC), sugieren que los mecanismos moleculares que rigen la señalización del inflamasoma aún no están definidos del todo y no se ha determinado si estos mecanismos se aplican complemente en todas las estructuras del SNC, ya que los resultados determinaron que el potasio extracelular alto fue el responsable de la apertura de los canales de pannexina que conducen a la activación de la CASP-1 en neuronas primarias y astrocitos, mas no fue un estímulo externo como clásicamente se propone (Silverman et al., 2009).

El efecto del K^+ sobre los canales de pannexina-1 resulta ser independiente del potencial de membrana, lo que sugiere una activación del inflamasoma mediada por un mecanismo alostérico. Esto indicaría que la pannexina-1 se asocia con componentes de este complejo inflamatorio, como el receptor P2X7 y la CASP-1 (Silverman et al., 2009). Así, a diferencia de los macrófagos y monocitos, donde la disminución del K^+ intracelular desencadena la activación del inflamasoma, en las células neuronales un aumento del K^+ extracelular parece activar la CASP-1, posiblemente mediante la pannexina-1. Además, se observa que la neutralización de la proteína adaptadora ASC con anticuerpos, bloquea la muerte celular inducida por ATP en ovocitos que coexpresaban el receptor P2X7 y pannexina-1 (Silverman et al., 2009).

b) Los agonistas de NLRP3 de origen cristalino o particulado, como MSU, sílice, asbesto, amiloide-β (Aβ) y alumbre, son fagocitados, provocando daño en los lisosomas. Este proceso genera la liberación de su contenido al citosol, el cual es detectado por el inflamasoma NLRP3 (Dostert et al., 2009; Hornung et al., 2008). La detección del contenido lisosomal citosólico ocurre mediante un mecanismo dependiente de la catepsina B, que posteriormente induce el ensamblaje de este inflamasoma (Schroder & Tschopp, 2010). Sin embargo, se ha observado que los macrófagos deficientes en catepsina B presentan una activación normal de la CASP-1 y la maduración de la IL-1β en respuesta a agonistas particulados de NLRP3, lo que sugiere que los efectos observados podrían deberse a acciones no deseadas del inhibidor de la catepsina B, como se propuso recientemente para NLRP1 (Dostert et al., 2009).

c) Los DAMP y PAMP, incluyendo el ATP y los activadores particulados/cristalinos, estos desencadenan la generación de ROS. Una vía dependiente de ROS desencadena la formación del complejo del inflamasoma NLRP3 y la posterior autoactivación de la CASP-1, lo que permite la maduración y secreción de IL-1β e IL-18 (Wen et al., 2023). En respaldo de este mecanismo, se ha observado que todos los agonistas de NLRP3 estudiados, incluidos el ATP y los activadores particulados, inducen la producción de ROS. Asimismo, el bloqueo de estas ROS mediante depuradores químicos suprime la activación del inflamasoma (Dostert et al., 2009).

El origen de las ROS no está claro totalmente, pero una o varias NADPH oxidasas están implicadas de manera alternativa en su formación, siendo principalmente de origen mitocondrial (Hornung et al., 2008). Estos productos derivados de las mitocondrias y otras moléculas de señalización mitocondrial también están asociadas a la activación del inflamasoma NLRP3, como las ya mencionadas ROS mitocondriales (mROS), ADNmt y la cardiolipina. Si bien el daño mitocondrial es necesario para el ensamblaje y la activación del inflamasoma NLRP3, no se conoce con certeza cómo las células inmunes responden a estímulos activadores del inflamasoma estructuralmente diversos (Shio et al., 2009).

Diversos estudios han reportado que la activación del inflamasoma NLRP3 no se ve modificada, tanto en células murinas como humanas, tras la inhibición genética o farmacológica de la enzima NADPH oxidasa (Kelley et al., 2019). Sin embargo, investigaciones más recientes indican que la eliminación de la NADPH oxidasa 2 (NOX2), responsable de generar O_2^-, reduce la inducción de NLRP3 en modelos de lesión cerebral traumática. Además, esta eliminación altera la interacción entre NLRP3 y la proteína asociada a tioredoxina (TXNIP) en la corteza cerebral de ratones con accidente cerebrovascular isquémico. pero no en el endotelio de la vena umbilical. Estos hallazgos sugieren que las ROS citosólicas participan en la activación del inflamasoma NLRP3 de manera dependiente del tipo de tejido (Ma et al., 2017).

d) Otras rutas asociadas a la activación del inflamasoma NLRP3 involucran alteraciones en los flujos iónicos. Se ha sugerido que la movilización de Ca^{2+} puede facilitar la interacción entre NLRP3 y ASC en macrófagos, aunque este mecanismo continúa siendo controvertido (Lee et al., 2012). Asimismo, se plantea que el aumento del Ca^{2+} citosólico provoca su acumulación en las mitocondrias, lo que desencadena disfunción mitocondrial y, en consecuencia, la activación del inflamasoma NLRP3 (Murakami et al., 2012). No obstante, estos mecanismos aún no se comprenden por completo (Kelley et al., 2019).

También intervienen otros flujos iónicos, como el influjo de Na^+ y el eflujo de Cl^-. Se ha observado que una menor entrada de Na^+ eleva el umbral de salida de K^+ necesario para activar NLRP3 en condiciones de baja concentración de este ion. Además, los MSU pueden elevar el Na^+ intracelular al interactuar con los lisosomas, lo que ocasiona entrada de agua, hinchazón celular y disminución del K^+ por debajo de 90 mM, favoreciendo la activación del inflamasoma. Sin embargo, el aumento de Na^+ por sí solo, inducido por ionóforos, no es suficiente para activar NLRP3 (Schorn et al., 2011; Kelley et al., 2019).

El papel del influjo de Cl^- en la activación del inflamasoma NLRP3 fue propuesto inicialmente en estudios que evidenciaron que la reducción del Cl^- extracelular (de 130 mM a 9 mM) potencia la maduración y liberación de IL-1β inducida por ATP, mientras que su aumento la inhibe (Verhoef et al., 2005). Aun así, el modo en que el eflujo de Cl^- se coordina con otros flujos iónicos para promover la activación del inflamasoma NLRP3

sigue sin estar completamente esclarecido (Kelley et al., 2019). La activación de los inflamasomas se ha vinculado con diversas enfermedades autoinflamatorias y autoinmunes, donde pueden desempeñar un rol causal o favorecer su progresión, además de amplificar la respuesta inflamatoria frente a señales del propio huésped (Guo et al., 2015).

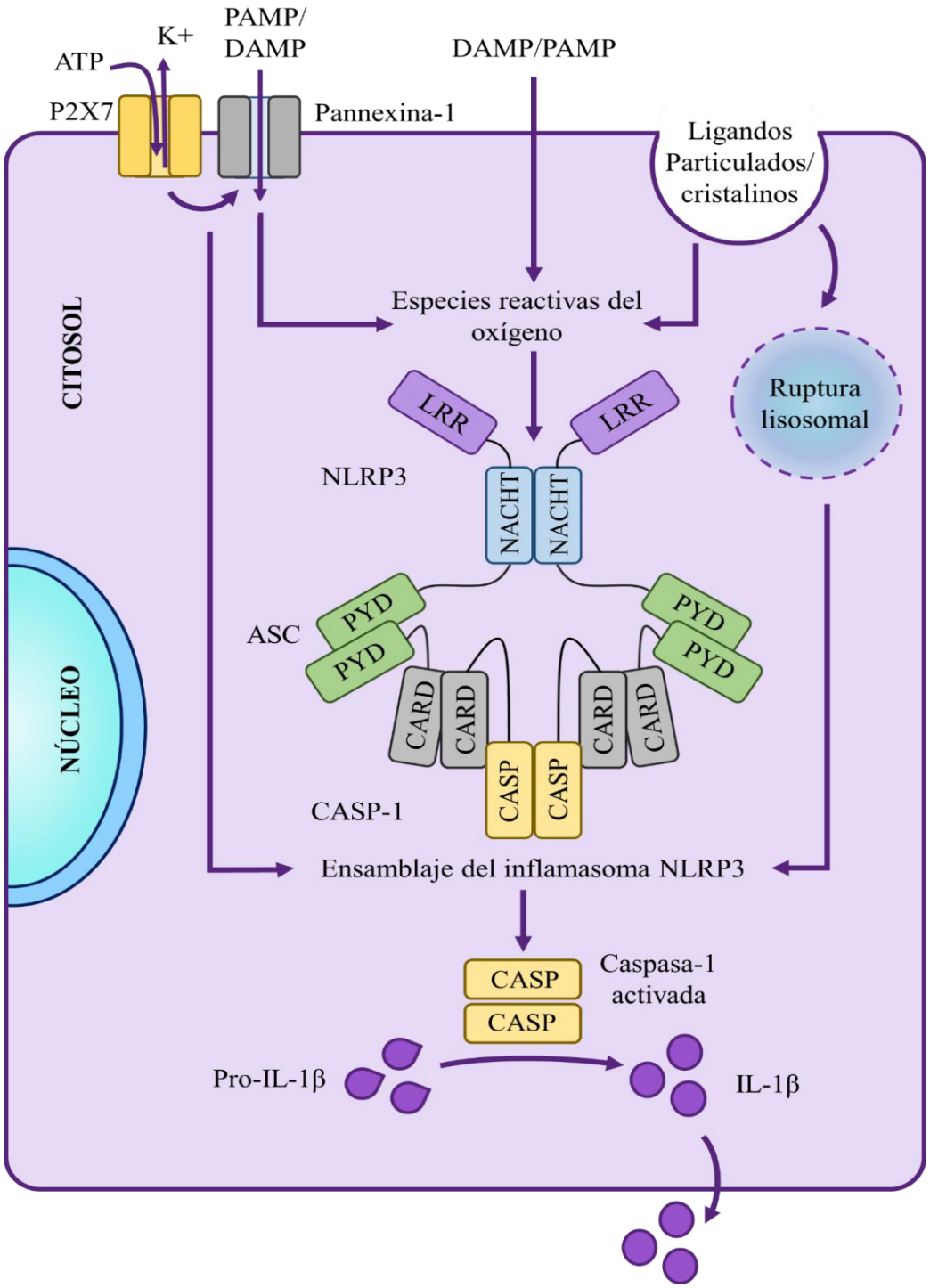

Figura 7: Activación del inflamasoma NLPR3 (Schroder & Tschopp, 2010).

2.2.15.1. Activación canónica y no canónica del complejo inflamasoma

Como ya se ha descrito la activación del inflamasoma es un proceso de dos pasos: la preparación o señal 1, comúnmente a través de Toll u otros receptores que activan NF-kB, los cuales inducen la transcripción de las proformas de IL-1β e IL-18 (Triantafilou, 2021). Mientras que la activación o señal 2, dirigida por las proteínas NLR (Kelley et al., 2019) y muchos otros numerosos efectores, incluyendo diversas toxinas bacterianas (que forman poros en las membranas celulares). Esta, a su vez, escinde la pro-IL-1β y la pro-IL-18, promoviendo la liberación de estas citocinas inflamatorias activas (Triantafilou, 2021). Estas caspasas son proteínas con actividad cisteína-proteasa que hidrolizan residuos específicos de aspartato. La IL-1β procesada carece de péptido señal, aún así, ésta es secretada por un mecanismo no convencional distinto a la ruta clásica de retículo endoplásmico-aparato de Golgi (Sollberger et al., 2012).

Se han identificado tres grupos principales dentro de la familia de las caspasas: las iniciadoras (CASP-2, 8, 9 y 10), que detectan señales de daño o estrés celular; las ejecutoras (CASP-3, 6 y 7), encargadas de ejecutar la muerte celular; y un tercer grupo conformado por caspasas inflamatorias (CASP-1, 4, 5 y 12 en humanos), vinculadas a respuestas inflamatorias (Sollberger et al., 2012). De forma análoga a las caspasas-8, 9 y 10, que participan en la apoptosis, las caspasas-1 y 11 poseen extensos dominios que facilitan su interacción con proteínas asociadas a la muerte celular (Juruj et al., 2013; Lamkanfi & Dixit, 2014).

Actualmente se reconocen dos vías de señalización mediadas por los inflamasomas: la canónica y la no canónica (Kelley et al., 2019), que actúan de manera complementaria (Broz & Dixit, 2016). En la vía canónica, la activación del inflamasoma implica primero la formación de un complejo macromolecular compuesto por NLRP3, ASC y proCASP-1, seguido de la secreción de las citocinas proinflamatorias IL-1β e IL-18 (Kayagaki et al., 2011). Estos inflamasomas canónicos convierten la procaspasa-1 en su forma catalíticamente activa, lo que permite el procesamiento y la liberación de las citocinas maduras (Lamkanfi & Dixit, 2014).

Se han caracterizado varios inflamasomas canónicos que activan la CASP-1 en respuesta a señales de peligro endógenas y exógenas, es decir su función depende mucho del tipo de estímulos; en general, los inflamasomas canónicos sirven como andamiaje para reclutar el zimógeno inactivo procaspasa-1 (Guo et al., 2015). Cada uno recibe su nombre según su estructura proteica NLR o ALR. NLRP2, NLRP6, NLRP7 y NLRP12 pueden ensamblar inflamasomas (Lamkanfi & Dixit, 2014); siendo los inflamasomas canónicos más representativos: NLRP3, AIM2 y NLRC4. NLRP3 o AIM2 que reclutan la CASP-1 (Wen et al., 2023).

En la vía no canónica del inflamasoma, los componentes de la vía canónica no participan directamente. Por ello, esta vía está mediada principalmente por la actividad de las caspasas 4/5 en humanos, y de la caspasa-11 (CASP-11) en ratones (Kelley et al., 2019), lo que conduce tanto a apoptosis como a la liberación de la interleucina-1 alfa (IL-1α) e IL-1β. Estudios en modelos murinos han demostrado que la activación de la vía no canónica ocurre en respuesta a la exposición a bacterias Gram negativas, como *Escherichia coli*, *Citrobacter rodentium* y *Vibrio cholerae*, así como a sus toxinas, incluyendo la subunidad B de la toxina del cólera (CTB) (Kayagaki et al., 2011, Keller et al., 2008). Por esta razón, las toxinas bacterianas y el LPS son considerados los principales activadores del inflamasoma en general.

En estudios realizados en ratones, se ha descrito que la CASP-11 puede mediar la activación de la CASP-1 en presencia de ciertos estímulos (Kayagaki et al., 2011). Esta vía no canónica del inflamasoma promueve la piroptosis dependiente de CASP-11, además de desencadenar la activación de NLRP3, aunque los detalles de este mecanismo aún no están completamente esclarecidos (Wen et al., 2023).

La activacion de CASP-11 conduce a la liberación de IL-1β e IL-18 e inciando los mecanismos de la piroptosis. Sin embargo, también se ha identificado otros mecanismos independientes de NLRP3, mediado únicamente por este mediador, llegando a ser capaz de inducir choque séptico en respuesta a LPS (Kayagaki et al., 2011). De hecho, los ratones deficientes a esta caspasa muestran protección frente al choque endotóxico (Guo et al., 2015).

Aunque los humanos no expresan CASP-11, estudios recientes indican que la caspasa-4 (CASP-4) y la caspasa-5 (CASP-5) en células humanas cumplen una función similar. Cabe destacar que la CASP-4 activa puede promover la activación del inflamasoma NLRP3 sin necesidad de un estímulo activador canónico de NLRP3, razón por la cual resulta de gran interés profundizar en el estudio del inflamasoma no canónico en células humanas (Guo et al., 2015).

Otro aspecto de la vía no canónica dependiente de CASP-11, es que no parece estar asociada con la participación de los sistemas de secreción que generen la liberación de PAMP a nivel del citosol de las células del hospedero, sino que requiere la señalización mediada por TLR4 inducida por LPS, a través de la proteína adaptadora contentiva de un dominio TIR (región homóloga del receptor Toll/Interleuquina-1) inducible por IFN-β, sin embargo, estos mecanismos moleculares tampoco se encuentran totalmente definidos (Kayagaki et al., 2011).

Estudios experimentales dirigidos a dilucidar la función de la CASP-4 en la activación del inflamasoma, indican que hay una liberación aumento de su expresión y en la epidermis y en los queratinocitos que son expuestos a radiación UV, este aumento está influenciado por la inducción de la CASP-1. La CASP-4 actúa en las fases previas de maduración de la CASP-1, a diferencia de la CASP-11 cuya inducción solo se requiere para la activación no canónica del inflamasoma, la cual diversos autores han señalado como el efector crítico en el desarrollo de la respuesta inflamatoria (Keller et al., 2008; Juruj et al., 2013).

Estudios realizados por Broz & Monack (2013) llegaron a la conclusión que la CASP-11 carecía de la capacidad de escindir las citoquinas proinflamatorias, ya que observaron que los macrófagos deficientes de las proteínas NLRP3, ASC y CASP-1, pudieron activar a la CASP-11 e iniciaron las rutas apoptóticas, sin embargo no pudieron liberar a IL-1β y IL-18 al espacio extracelular, lo cual sugirió que la CASP-11 actúa en conjunto con el inflamasoma NLRP3 para promover la maduración de las citoquinas más no su liberación, esto es muy significativo dentro de la activación de los mecanismos de los inflamasomas y su plasticidad en la respuesta inflamatoria.

Otra diferencia entre la activación canónica y no canónica, es la liberación de la IL-1α y de la proteína de alta movilidad del grupo 1 (HMGB1). Esta HMGB1, actúa como señal endógena de peligro y su activación canónica por parte de los inflamasomas requiere la participación de la CASP-1 activa, sin embargo, se ha reportado que la CASP-1 no es necesaria para la liberación de estos mediadores solubles en respuesta a *E. coli* y a la toxina B del cólera (CTB). Este resultado sugiere que la lisis celular es el mecanismo de liberación de estos factores, después que se encuentra activada la CASP-11 (Broz & Monack, 2013).

2.2.16. Inflamasoma NLRP1.

El NLRP1 fue el primer miembro de la familia NLR identificado como capaz de formar un inflamasoma (Halff et al., 2012). Sus principales variantes, NLRP1a y NLRP1b, son proteínas con afinidad por ácidos nucleicos. Entre ellas, el NLRP1b fue el primero en caracterizarse funcionalmente, ya que se activa específicamente en respuesta a la toxina letal del ántrax (LeTx), compuesta por el antígeno protector (PA) y el factor letal (LF). Este último, una metaloproteasa con un motivo catalítico similar al de las metaloproteasas de zinc, escinde a NLRP1b en su extremo N-terminal, lo que desencadena el ensamblaje del inflamasoma, un mecanismo esencial para la defensa frente a *Bacillus anthracis* en ratones (Vanaja et al., 2015).

En humanos existe una única proteína NLRP1, que contiene un dominio PYD, un NOD, un LRR, un dominio de función de identificación (FIIND) y un CARD, mientras que los roedores poseen varios parálogos (NLRP1A, NLRP1B y NLRP1C), pero carecen del PYD (Broz & Dixit, 2016). Se han identificado 5 alelos distintos de Nlrp1b en ratones, de los cuales 2 están asociados con la respuesta a la LeTx. La variabilidad genética en el locus Nlrp1b determina la susceptibilidad a esta toxina, ya que los macrófagos de cepas sensibles, pero no de resistentes, activan la CASP-1 tras la exposición (Schroder & Tschopp, 2010). Un rasgo clave del NLRP1b es su autoprocesamiento en el FIIND para su activación. Aunque es debatible el papel de ASC. Un estudio en ratones con distintos antecedentes genéticos mostró que, si bien ASC facilita la autoproteólisis de la CASP-1 inducida por LeTx, no es indispensable para activar este inflamasoma (Broz et al., 2010).

2.2.17. Inflamasoma NLRP3.

El NLRP3, también conocido como criopirina o el receptor NOD con dominios de LRR y pirina (proteína 3 con dominios de pirina), es el inflamasoma más estudiado, sin embargo, se han descrito otros inflamasomas menos conocidos o de carácter aún enigmático cuyas funciones parecen abarcar desde la activación no canónica del inflamasoma, la patogenicidad y daño celular y tisular, la supresión o modulación de la respuesta inflamatoria e incluso el desarrollo embrionario (Triantafilou, 2021).

Este inflamasoma responde a un conjunto sorprendentemente diverso de estímulos para su activación, como ya se mencionó. Entre ellos se incluyen materiales cristalinos y particulados como los cristales de ácido úrico, sílice, asbesto y alumbre; ATP extracelular; toxinas formadoras de poros; híbridos ARN-ADN y distintos patógenos virales, bacterianos, fúngicos y protozoarios (Broz & Dixit, 2016). Asimismo, puede activarse por la presencia de Aβ, DAMP, hialuronano (Lamkanfi & Dixit, 2014), variaciones en los niveles intracelulares de Ca^{2+}, la formación de poros inespecíficos en la membrana, el eflujo de K^{+}, la generación de ROS mitocondriales, la translocación de NLRP3 hacia la mitocondria, la liberación de ADN mitocondrial o cardiolipina y la liberación de catepsinas (Guo et al., 2015). No obstante, pese a años de investigación, aún no se ha logrado establecer un mecanismo unificado que explique de manera completa el proceso de activación del NLRP3 (Broz & Dixit, 2016).

Como se ha señalado, en macrófagos la presencia de activadores de NLRP3 por sí sola no es suficiente para inducir la activación del inflamasoma; se requieren tanto la fase de preparación o cebado (señal 1) como la fase de activación (señal 2). La señal de cebado induce la inducción del factor de transcripción NF-κB, que regula positivamente la inducción de de NLRP3, aunque no parece modificar los niveles de ASC, pro-caspasa-1 ni pro-IL-18 (Bauernfeind et al., 2009). Además, las proteínas MyD88 y TRIF, componentes clave de la vía de señalización del NF-κB, modulan la inducción de NLRP3 y pro-IL-1β en respuesta a ligandos de los receptores tipo Toll (Bauernfeind et al., 2009). Por su parte, la caspasa-8 (CASP-8) interactúa con el complejo quinasa IκB (IKK), un elemento esencial para la activación de NF-κB, facilitando tanto la transcripción como la translocación de este factor hacia el núcleo (Kelley et al., 2019).

Se observó que una vía alternativa adicional funcionaba a diferencia de las vías canónicas o no canónicas. A nivel de monocitos humanos no se requieren estímulos secundarios después de la estimulación con LPS para activar la CASP-1 e inducir la maduración y secreción de IL-1β. Canónicamente, este inflamasoma NLRP3 se ensambla cuando el PYD amino-terminal del NLRP3 participa en interacciones homotípicas con el PYD de ASC para reclutar CASP-1 (Kelley et al., 2019).

En esta vía alternativa, la activación del inflamasoma NLRP3 requiere primero un estímulo que active a NF-κB, necesario para inducir la expresión de pro-IL-1β y mantener niveles adecuados de NLRP3 (Lamkanfi & Dixit, 2014). A diferencia de la vía clásica, este mecanismo no depende del eflujo de K^+. En células dendríticas murinas se observó que la exposición prolongada a LPS, sin señales adicionales, puede inducir el procesamiento y secreción de IL-1β mediada por NLRP3, de forma independiente del receptor P2X7 (Kelley et al., 2019). Asimismo, una leve estimulación de los TLR, incluso sin aumentar la cantidad de NLRP3, puede activar esta vía a través de TLR4 y los adaptadores MyD88 e IRAK1/4, sin requerir síntesis de nuevas proteínas (Lin et al., 2014; Schroder et al., 2012).

Por otra parte, NLRP3 también se activa ante irritantes ambientales como sílice, radiación UV-B (Cassel et al., 2008) y compuestos cutáneos como el cloruro de trinitrofenilo, trinitroclorobenceno o dinitrofluorobenceno (Sutterwala et al., 2006). Esta activación se asocia con enfermedades inflamatorias como silicosis, asbestosis, quemaduras solares y reacciones alérgicas por contacto (Schroder & Tschopp, 2010).

La activación del inflamasoma NLRP3 contribuye a la defensa del huésped frente a infecciones, pero su desregulación puede participar en la patogénesis de diversos trastornos inflamatorios tisulares. Se han identificado varios mecanismos que modulan su activación, incluidas modificaciones postraduccionales de NLRP3 y sus proteínas asociadas, siendo la ubiquitinación y la fosforilación las mejor caracterizadas (Kelley et al., 2019; Yang et al., 2017).

2.2.18. Disfunción del NLRP.

Las señalizaciones aberrantes de los inflamasomas contribuyen a la patología en un gran número de enfermedades infecciosas y autoinmunes (Lamkanfi & Dixit, 2014). Son responsables de la inflamación crónica, que se caracteriza por una producción constantemente alta o creciente de citocinas proinflamatorias (tormenta de citocinas) que persiste durante mucho tiempo más allá de la eliminación o ausencia de infecciones, y donde la respuesta inmune continúa bombeando glóbulos blancos y liberando mensajeros químicos, lo cual ocasiona el daño orgánico, la persistencia de enfermedades preadquiridas y el desarrollo de múltiples condiciones patológicas (Xu et al., 2024).

La mayoría de las disfunciones del inflamasoma NLRP se deben a mutaciones en genes que regulan su formación, originando enfermedades raras conocidas como síndromes periódicos asociados a la criopirina (CAPS), un grupo de trastornos hereditarios caracterizados por fiebre e inflamación recurrentes que forman un continuo clínico (Schroder & Tschopp, 2010). Entre ellos destacan el síndrome autoinflamatorio familiar por frío (FCAS), el síndrome de Muckle-Wells (SMW) y el síndrome neurológico articular cutáneo infantil crónico (CINCA), cuyas células mieloides muestran una sobreproducción de IL-1β (Agostini et al., 2004). En modelos murinos con mutaciones equivalentes a las de pacientes con SMW o FCAS, se han observado inflamasomas NLRP3 hiperactivos y mayores niveles de IL-1β (Brydges et al., 2009; Meng et al., 2009). Estos pacientes suelen responder favorablemente a los bloqueadores de IL-1β (Goldbach-Mansky et al., 2006) y a la inhibición de CASP-1 (Stack et al., 2005).

Asimismo, la activación del inflamasoma se ha vinculado con diversas patologías, como la esclerosis múltiple (EM), la enfermedad de Alzheimer (EA), la enfermedad de Parkinson (EP), la aterosclerosis (AS) y la diabetes tipo 2 (DM2) (Guo et al., 2015). También se ha asociado a la alteración de los receptores cerebrales NMDA, cuya activación prolongada puede contribuir a la neurodegeneración, la muerte neuronal tras eventos agudos (como *ictus* o trauma) y la hiperactividad de los canales de Ca^{2+} tipo T implicados en la epilepsia (Kawamoto et al., 2012).

Finalmente, se sabe que, además de NLRP1 y NLRP3, las recientemente identificadas CARD8, NLRP6 y NLRP7 (conocidas por formar inflamasomas auténticos) actúan como sensores en la formación de complejos inflamasómicos, aunque su repercusión en la salud aún es desconocida (Xu et al., 2024).

2.2.19. Neuroinflamación y neurodegeración.

La neuroinflamación es la respuesta local del cerebro frente a infecciones, traumatismos, moléculas tóxicas o agregados proteicos, mediada principalmente por la activación de las microglías. Estas células liberan citocinas y quimiocinas que inducen la activación de astrocitos y el reclutamiento de células inmunitarias periféricas (Gustin et al., 2015).

Los procesos inflamatorios y la liberación de citocinas proinflamatorias se relacionan estrechamente con la neuroinflamación y las enfermedades neurodegenerativas (Gustin et al., 2015), las cuales afectan a más del 1,7 % de la población mundial. Dichas patologías se caracterizan por disfunción sináptica progresiva, muerte neuronal y neuroinflamación estéril, lo que clínicamente se traduce en deterioro cognitivo o motor que puede avanzar hasta la pérdida total de funciones vitales e incluso la muerte (Castro-Gomez & Heneka, 2024).

Como ya se indicó las enfermedades neurodegenerativas, tales como la EP, la EA y la EM, (Gustin et al., 2015), ademas de los trastornos metabólicos, tales como ateroesclerosis (ASVD), DM2 y obesidad están también están relacionadas con la activacion de inflamasomas (Guo et al., 2015).

Existe evidencia emergente en modelos animales que sugiere que son las respuestas inflamatorias sostenidas de microglías y astrocitos, más que la inflamación en sí misma, las que contribuyen a la progresión de las enfermedades neurodegenerativas (Glass et al., 2010). Dentro de estas respuestas, se ha observado que la liberación de IL-1β desempeña un papel relevante en patologías del SNC; no obstante, su mecanismo de acción exacto aún no está completamente definido, dado que se han reportado tanto efectos neurotóxicos como funciones regenerativas asociadas a este proceso (Gustin et al., 2015).

Recientemente el papel del inflamasoma NLRP3 en las enfermedades del SNC han comenzado a investigarse detalladamente, como el caso de la EM, una enfermedad inflamatoria desmielinizante del SNC. Varios estudios sugieren una implicación general del inflamasoma NLRP3 en la EM, en la encefalomielitis autoinmune experimental (EAE), un modelo murino de EM; los ratones deficientes en inflamasoma se ven protegidos de la progresión de la enfermedad (Inoue & Shinohara, 2012).

La implicación del inflamasoma NLRP3 en la EA se ha reforzado, demostrando tanto *in vitro* e *in vivo,* la capacidad de los péptidos Aβ para activar el inflamasoma (Halle et al., 2008). En modelos murinos *in vivo* de EA, los ratones deficientes en NLRP3 se vieron protegidos del deterioro de la memoria espacial y mostraron una menor carga de Aβ (Heneka et al., 2013).

En muchos casos, las enfermedades neurodegenerativas se relacionan con la acumulación de agregados proteicos, como los cuerpos de Lewy en la EP, las placas seniles en la EA o la PrPsc en las enfermedades priónicas. (Hafner-Bratkovic et al., 2012). Los agregados de α-sinucleína (α-sin) que forman cuerpos de Lewy y neuritas de Lewy, (las que se encuentran inicialmente en la sustancia negra de pacientes con EP), son más prominentes en las áreas corticales en pacientes con demencia de estos cuerpos (Castro-Gomez & Heneka, 2024).

Las microglías cerebrales pueden secretar IL-1β, mientras que los astrocitos, principales células del SNC, mantienen la homeostasis y forman cicatrices gliales tras una lesión, proceso conocido como astrogliosis reactiva (Sofroniew & Vinters, 2010). En enfermedades neurodegenerativas, es posible que los inflamasomas microgliales se activarían más por la muerte neuronal y la liberación de ATP que por las placas seniles y péptidos agregados. Además, las diferencias genéticas entre microglía adulta y neonatal podrían explicar variaciones en la activación inflamatoria en el cerebro adulto enfermo (Gustin et al., 2015).

El mecanismo de activación del inflamasoma aún no se comprende del todo. En el cerebro de ratón, la formación del inflamasoma NLRP3 funcional y la secreción de IL-1β parecen

restringirse a la microglía, sin confirmarse su participación en astrocitos ni la inducción completa de sus componentes (Gustin et al., 2015). La microglía produce IL-1β, IL-18 e IL-1α frente a distintos activadores, y se considera que NLRP3 no reconoce directamente a los ligandos, sino que responde a alteraciones en la homeostasis celular (Gustin et al., 2015).

En tejido cerebral humano con EA, los genes y proteínas del inflamasoma NLRP1 y NLRP3 se encuentran aumentados (Kaushal et al., 2015). En estudios *in vitro*, los agregados de Aβ activan los TLR en microglía, induciendo la regulación dependiente de NFκB de NLRP3, pro-IL-1β, pro-IL-18 y GSDMD. Además, NLRP1 está altamente expresado en neuronas corticales de pacientes con EA, donde activa a la CASP-1 promoviendo la liberación de IL-1β y otros péptidos (Kaushal et al., 2015). En modelos de ratones Nlrp3−/− y Asc−/− con mutaciones asociadas a FTD, no se observaron déficits de memoria espacial (Ising et al., 2019).

Las placas Aβ aparecen nivel del LCR o el suero en áreas corticales muchos años antes (hasta décadas) de las quejas cognitivas, por ello su detección neuropatológica es retardada sobretodo en estructuras vulnerables como el *locus coeruleus* (Braak & Del Tredici, 2004).

2.2.20. Neuroinflamacion e hipoxia

La reducción del flujo sanguíneo y del suministro de oxígeno provoca la muerte neuronal y la liberación de factores comoDAMP, lo que desencadena una inflamación localizada en la zona cerebral lesionada. Esta respuesta inflamatoria agrava el daño secundario al intensificar la disfunción de la BHE, la insuficiencia microvascular, el edema cerebral, el estrés oxidativo y la muerte neuronal directa. Además, se ha evidenciado que la inflamación no se limita al área lesionada, sino que puede extenderse y mantenerse en todo el cerebro (Shi et al., 2019).

Se ha propuesto que la liberación de IL-1β mediada por NLRP3 incrementa la permeabilidad de las células endoteliales cerebrales y promueve la neurotoxicidad

microglial. En condiciones normales, la IL-1β se mantiene en niveles bajos y cumple funciones moduladoras sin efectos dañinos. Sin embargo, tras una isquemia cerebral, su secreción excesiva por la microglía puede potenciar la excitotoxicidad del glutamato y el estrés oxidativo, activando cascadas inflamatorias que culminan en lesión neuronal (Gao et al., 2017).

En estudios con neuronas corticales primarias de ratones C57BL/6J sometidas a privación de glucosa y oxígeno-glucosa, se indujo un *ictus* isquémico mediante la oclusión de la arteria cerebral media seguida de reperfusión. La evaluación neurológica mostró un aumento en el daño tisular cerebral y en los niveles de las proteínas del inflamasoma NLRP1 y NLRP3. Estos componentes también se hallaron elevados en tejidos cerebrales post mortem de pacientes con accidente cerebrovascular, junto con IL-1β e IL-18. De forma similar, en tejidos cerebrales ipsilaterales de ratones I/R y en pacientes se observó el mismo patrón de incremento. El tratamiento con inhibidores de la CASP-1 protegió las neuronas corticales cultivadas y las células cerebrales *in vivo* en modelos experimentales de *ictus* (Fann et al., 2013).

La ausencia de ASC en los astrocitos podría explicar la poca liberación de citoquinas proinflamatorias. Los inflamasomas independientes de ASC, como los inflamasomas NLRP1 o NLRC4 (que pueden activar directamente la CASP-1), podrían conducir a la inducción de piroptosis, además de la escisión y secreción de IL-18. La vía de activación no canónica del inflamasoma podría ser funcional en los astrocitos, ya que demostraron que la inducción de CASP-11 puede ser regulada positivamente tras la sensibilización. Tambien, se ha demostrado la inducción débil de ASC, CASP-1 y CASP-11 en neuronas corticales, pero relativamente mas abundantes para, NLRP1, NLRP2 y AIM2 (Gustin et al., 2015).

En otros estudios, se reportó que la secreción de IL-1β y la liberación de glutamato aumentaron considerablemente en el hipocampo de ratones sometidos a tratamiento con a privación de O_2 y glucosa. La estimulación con glutamato indujo estrés por ROS y la activación del inflamasoma TXNIP/NLRP3, lo que provocó daño a nivel del hipocampo, esto proporciona evidencia directa de que NLRP3 es una importante molécula diana que

vincula el estrés oxidativo mediado con el daño neurovascular en *ictus* isquémico (Soria et al., 2014).

En estudios usando el modelo murino de oclusión de la arteria cerebral media (MCAO), Yang et al. (2014) demostraron que NLRP3 se expresa principalmente en microglía y células endoteliales, pero no en neuronas, indicando que estas células son la fuente principal del inflamasoma en regiones vulnerables a daño isquémico. Aunque la localización exacta de NLRP3 en el cerebro aún no se ha definido completamente, la evidencia sugiere su papel clave en la patogénesis del ictus isquémico (Gao et al., 2017).

Por otro lado, Zhang et al. (2015) observaron una sobreexpresión de NLRP3, ASC y CASP-1 en las paredes de aneurismas cerebrales humanos, más intensa en los aneurismas rotos, lo que apunta a su implicación en la enfermedad vascular cerebral. En modelos murinos de ictus agudo, también se ha reportado un incremento de citocinas proinflamatorias como IL-1β, IL-6, TNF-α y TGF-β incluso en el hemisferio contralateral (Taylor & Sansing, 2013). De manera complementaria, Feng et al. (2017) demostraron que los linfocitos persisten en el tejido cerebral durante fases tardías del ictus, manteniendo el estado neuroinflamatorio crónico.

Asimismo, estudios *post mortem* en cerebros de pacientes con hemorragia intracerebral mostraron una sobreexpresión de NF-κB, MIP-2 y metaloproteinasas de matriz en regiones contralaterales, aunque con menor intensidad que en el hemisferio afectado, lo que indica una respuesta inflamatoria global temprana (Wu et al., 2010). Modelos animales han confirmado estos hallazgos, evidenciando elevación de IL-1β, IL-6, TGF-β, TNF-α e IL-27 en ambos hemisferios durante los primeros días tras el evento isquémico (Zhao et al., 2017).

Las citocinas proinflamatorias y las ROS provocan daño neuronal directo y perpetúan la activación inmunitaria en el SNC, incrementando la permeabilidad de la BHE (Morganti-Kossmann et al., 1999). En modelos experimentales, la neutralización de IL-1β se ha asociado con menor edema, reducción del daño neuronal y una mejor recuperación

funcional (Clausen et al., 2009). Por ello, los inhibidores de IL-1β se consideran prometedoras dianas terapéuticas, con eficacia demostrada en patologías inflamatorias como la artritis reumatoide y la enfermedad de Still (Lamkanfi & Dixit, 2014).

Asimismo, la inhibición del inflamasoma NLRP3 en sus distintas fases (expresión, ensamblaje o actividas) podría representar una estrategia terapéutica relevante frente al deterioro neurológico asociado al *ictus* isquémico; no obstante, los mecanismos precisos de su implicación en el daño neurovascular aún no están completamente esclarecidos (Gao et al., 2017).

Se ha demostrado que HIF-1α y el inflamasoma NLRP3 desempeñan un papel importante en la patogénesis de lesiones agudas, no solo en el tejido nervioso sino también en el pulmonar. Además, existe evidencia de que HIF-1α podría modular la activación del inflamasoma NLRP3 y la secreción de IL-1β a través de la señalización de NF-κB; esta regulación génica es particularmente relevante al promover la actividad nuclear en las células (Huang et al., 2019).

La neuroinflamacion en la isquemia cerebral está relacionado con la hipoxia. Durante la isquemia cerebral, el suministro de O_2 es insuficiente y la PaO_2 en el tejido disminuye, lo que provoca la activación del HIF-1α, el cual induce respuestas en la angiogénesis, el metabolismo de la glucosa y la supervivencia celular tras un *ictus* isquémico (Dong et al., 2019). Los factores endógenos, como neurotransmisores, aminoácidos y sales inorgánicas, cumplen una función protectora contra la isquemia cerebral al regular HIF-1α (Jin et al., 2015).

En un estudio realizado en ratas Sprague-Dawley mediante un modelo experimental de isquemia cerebral por oclusión de la arteria cerebral media, se evaluó la participación de HIF-1α en la respuesta inflamatoria asociada al inflamasoma NLRP3 y la muerte celular. Se administró YC-1, un inhibidor farmacológico de HIF-1α, para analizar sus efectos sobre la inflamación y el daño cerebral. Los resultados mostraron que la inhibición de HIF-1α redujo la expresión de NLRP3, IL-1β, IL-18 y caspasa-1, así como la piroptosis,

la apoptosis y la lesión cerebral, lo que sugiere la participación de HIF-1α en la neuroinflamación posterior a la isquemia (Jiang et al., 2020).

Se ha demostrado el papel neuroprotector de la IL-6 durante la neuroinflamación, participando en la funcionalidad neuronal e induciendo el fenotipo colinérgico de las neuronas simpáticas (Erta et al., 2012). Además, promueve la diferenciación neuronal en líneas celulares de ratas y se expresa tanto en células gliales como neuronales (Vallières & Rivest, 1997). También desempeña una función importante en la neurogénesis adulta, proceso de formación de nuevas neuronas y glías a partir de células madre neurales (Altman & Das,1965).

Los niveles de IL-6 en el SNC aumentan durante procesos de neuroinflamación, infecciones o lesiones. Los primeros estudios mostraron el incremento de su inducción en meningitis viral, encefalitis y en el LCR de pacientes con infecciones virales agudas (Erta et al., 2012). En modelos animales de lesión cerebral, la IL-6 se regula al alza y cumple múltiples funciones, como evidencian los ratones con deficiencia de IL-6 (IL-6 KO), que presentan mayor estrés oxidativo, menor activación neuroglial, reducción en el reclutamiento linfocitario y recuperación más lenta (Woodroofe et al., 1991).

Las funciones propuestas para la IL-6 en el contexto del accidente cerebrovascular incluyen un papel en la regulación del estrés oxidativo, la angiogénesis y la modulación de la neurotoxicidad. De forma similar, las convulsiones epilépticas generan procesos excitotóxicos, por lo que resulta consistente observar niveles elevados de IL-6 en el LCR de pacientes con epilepsia tras los episodios convulsivos (Peltola et al., 2000).

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación

La presente investigación es de tipo experimental, con enfoque cuantitativo, nivel explicativo y carácter transveral y prospectivo. Se desarrolló bajo un diseño experimental factorial con grupo control, en el cual se evaluaron dos factores: la exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud (normoxia a nivel del mar frente a hipoxia ambiental a 4200 m s. n. m.) y el efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud (1, 3, 7, 14 y 28 días).

Como variables dependientes se evaluó la inducción génica de NLRP3, IL-6, IL-1β y HIF-1α en el cuerpo estriado, hipocampo, corteza frontal e hipotálamo. Asimismo, se controlaron las variables ambientales con el propósito de determinar el efecto específico de la hipoxia ambiental de gran altitud sobre la inducción génica del complejo inflamasoma.

3.2. Unidad de análisis

Rata albina de sexo masculino de 200 g y de 8 semanas de edad.

3.3. Población de estudio

Ratas albinas de sexo masculino con pesos aproximados de 200 g y de 8 semanas de edad, que recibieron una dieta basada en alimento balanceado comercial y agua *ad libitum*, alojadas en parejas en cajas de policarbonato con viruta autoclavada. Este estudio se llevó a cabo de acuerdo con los requisitos del Comité de Bioética de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (autorización CEBA 2021-22), con los requisitos internacionales de las 3R.

3.4. Muestra

30 ratas albinas de sexo masculino con pesos aproximados de 200 g y de 8 semanas de edad.

3.5. Tejido o estructura anatómica analizada

Regiones cerebrales (cuerpo estriado, hipocampo, corteza prefrontal e hipotálamo) obtenidas de ratas expuestas a normoxia o a hipoxia ambiental de gran altitud, en diferentes tiempos de evaluación (1, 3, 7, 14 y 28 días). De cada región se procesaron aproximadamente 30 miligramos (mg) de tejido para el análisis molecular.

3.6. Técnica de Recolección de Datos

3.6.1. Materiales y reactivos

- Agua ultrapura.
- Alcohol al 70%.
- Cinta Masking Tape.
- Cofias.
- Contenedores de plástico.
- Filtros de jeringa estériles (0.20 µm).
- Gradilla para tubos cónicos de 50 mL.
- Guantes de nitrilo.
- Jeringas de 10 ml estériles con aguja 21 x 1 ½".
- Kit cDNA UltraScript® Separate Oligos (PCRBIOSYSTEMS, Londres, Reino Unido).
- MasterMix FastGene IC green Universal MIX (Nippon Genetics, Alemania).
- Mascarillas.
- Micropipetas.
- NucleoSpin®-RNA-Plus (Macherey-Nagel, Düren, Alemania).
- Papel absorbente para limpieza de materiales y equipos.
- Pipetas estériles de 10 mL.
- Pipeteadores.
- Placas de PCR.
- Tubos cónicos de 15 y 50 mL.

3.6.2. Equipos

- Baño María.
- Cabina de Bioseguridad.
- Cámara de flujo laminar.
- Centrífuga refrigerada.
- Espectrofluorímetro BioTek.
- Espectrofluorimetro con monocromador Biotek.
- Lector de ELISA Biotek.
- Nanospectrofotómetro (Microdigital, Seúl, República de Corea).
- Refrigeradora -20 °C.
- Termociclador a tiempo real CFX Biorad.
- Ultracongeladora a -80 °C.

3.6.3. Manejo y alojamiento de los animales

La etapa de crianza randomizada de las ratas se dividió en dos grupos, cada una separada en diez subgrupos (3 animales por grupo). Cada grupo se crió en condiciones ambientales controladas (22 ± 2 °C y 40 ± 10% de humedad relativa) con un ciclo de luz de 12 horas. Estos grupos fueron evaluados en diferentes ciudades (Figura 8 y 9):

- **Ciudad de Lima (Provincia de Lima, 161 m s. n. m.):** Conformada por cinco subgrupos correspondientes al grupo control en normoxia, mantenidos en el Laboratorio de Fisiología Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

- **Ciudad de Casapalca (Provincia de Huarochirí, Lima, 4200 m s. n. m.):** Conformada por cinco subgrupos correspondientes al grupo experimental en hipoxia, cuyos animales fueron expuestos a hipoxia ambiental de gran altitud.

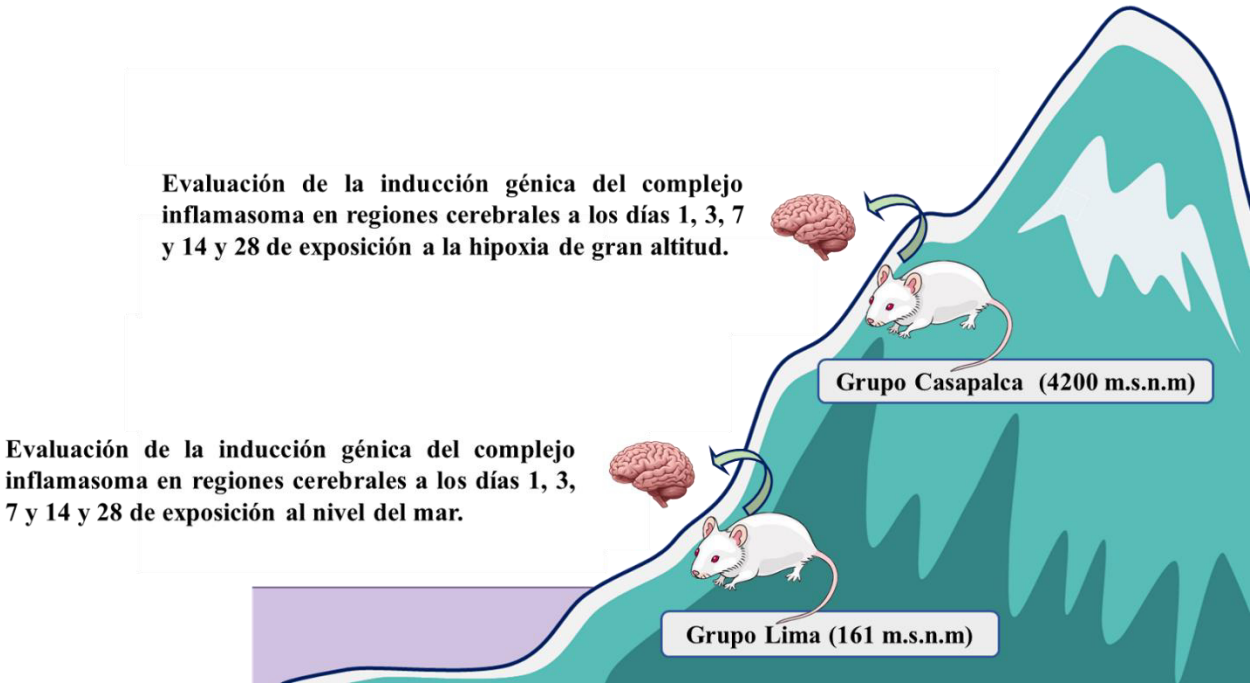

Figura 8: Grupos de ratas (Lima y Casapalca). En ambos se evaluó la inducción génica del complejo inflamasoma a los días 1, 3, 7, 14 y 28 respectivamente.

3.6.4. Selección de muestra

La muestra estuvo conformada por ratas seleccionadass aleatoriamente a los grupos experimentales previamente establecidos. Para cada tiempo de evaluación (días 1, 3, 7, 14 y 28), se incluyeron tres ratas por grupo, tanto en el grupo control mantenido en normoxia a nivel del mar como en el grupo expuesto a hipoxia ambiental de gran altitud (4200 m s. n. m.).

3.6.5. Procedimiento de colección de muestras

Los animales fueron sacrificados por decapitación en los días 1, 3, 7, 14 y 28 de exposición, según el cronograma experimental. Posteriormente, se realizó la extracción inmediata de los cerebros, los cuales fueron enjuagados con solución de cloruro de sodio al 0,9% (p/v) con el fin de eliminar restos hemáticos y tisulares.

Las regiones cerebrales de interés (cuerpo estriado, hipocampo, corteza prefrontal e hipotálamo) fueron disecadas en condiciones de frío (4 °C). Las muestras obtenidas en Lima fueron congeladas inmediatamente a −80 °C hasta su posterior análisis. En el caso de los grupos expuestos a gran altitud, los tejidos fueron transportados en condiciones de

refrigeración controlada hasta Lima y almacenados a −80 °C para su análisis molecular posterior (Figura 10).



Figura 9: Crianza de ratas a 4 200 m.s.n.m (grupos de gran altitud - Casapalca) en condiciones ambientales controladas durante 28 días.

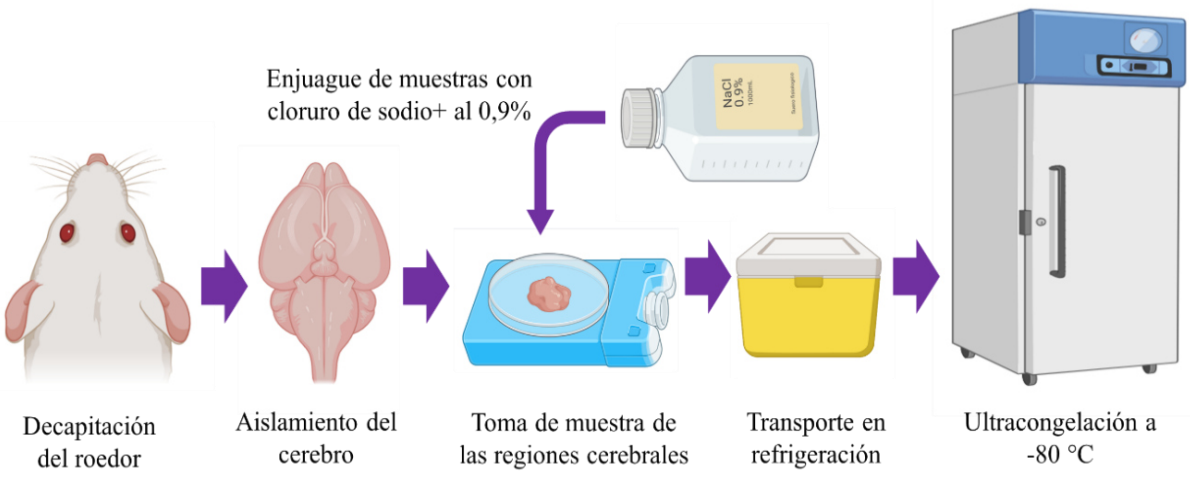

Figura 10: Toma de muestra cerebrales en Casapalca y su transporte refrigerado a Lima su posterior procesamiento.

3.7. Inducción génica relacionada al complejo inflamasoma por PCR

La inducción génica de NLRP3, IL-6, IL-1β y HIF-1α se evaluó como variable dependiente, considerando como factores experimentales la exposición a hipoxia ambiental de gran altitud (4200 m s. n. m.) frente a normoxia y el tiempo de exposición

(1, 3, 7, 14 y 28 días), en las siguientes regiones cerebrales: cuerpo estriado, hipocampo, corteza prefrontal e hipotálamo.

Cada muestra cerebral de aproximadamente 30 mg se sometió a 3 pasos secuenciales: extracción de ARN total, síntesis de ADN complementario (ADNc) y PCR cuantitativa (qPCR) (Figura 11). Para la extracción de ARN, se utilizó el kit Nucleospin RNA plus (Macherey-Nagel, Alemania). La pureza del ARN se confirmó con una relación 260/280 > 1,95. Para la transcripción inversa (síntesis de ADNc), se utilizó el kit cDNA UltraScript® Separate Oligos (PCRBIOSYSTEMS, Londres, Reino Unido). Para la PCR cuantitativa (qPCR), se utilizó el masterMix FastGene IC green Universal MIX (Nippon Genetics, Alemania). Las condiciones de ciclado fueron las siguientes: desnaturalización inicial a 95 °C durante 2 minutos (1 ciclo); templado a 95 °C durante 5 segundos (40 ciclos); recocido/elongación a 60-65 °C durante 20-30 segundos (40 ciclos) (Barrios-Arpi et al., 2022).

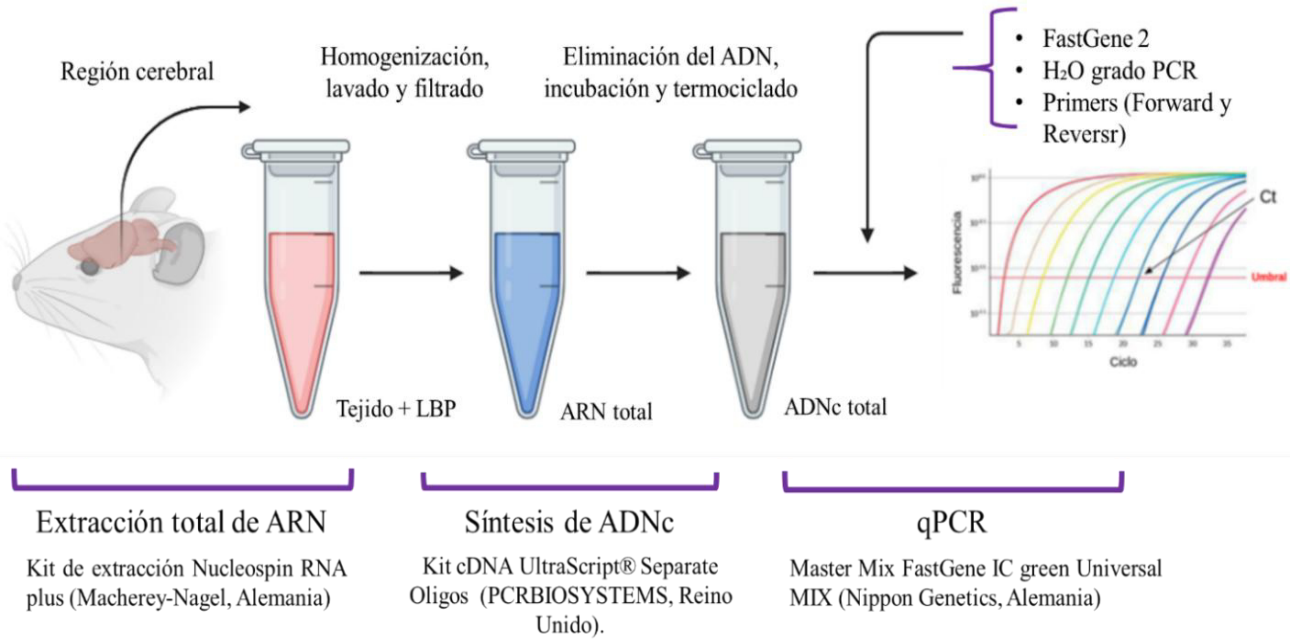

Figura 11: Extracción total de ARN, síntesis de ADNc y qPCR de las muestras de regiones cerebrales expuestas a normoxia e hipoxia ambiental a gran altitud.

Los genes diana y los cebadores específicos (Sigma-Aldrich, EE. UU.) fueron los siguientes:

Tabla 2: Cebadores (Forward y Reverse) para GAPDH, NLRP3, IL-6, IL-1β e HIF-1 α.

Gen diana	Cebador Forward (5′ a 3′)	Cebador Reverse (3′ a 5′)
GAPDH	TCCCTGTTCTAGAGACAG	CCACTTTGTCACAAGAGA
NLRP3	CTGCATGCCGTATCTGGTTG	GCTGAGCAAGCTAAAGGCTTC
IL-6	CCCACCAGGAACGAAAGTCA	TGAAGTCTCCTCTCCGGACT
IL-1β	TGGCAACTGTCCCTGAACTC	GTCGAGATGCTGCTGTGAGA
HIF-1α	GGCGAGAACGAGAAGAAAAATAGG	GGCGAGAACGAGAAGAAAAATAGG

Los datos se normalizaron según la inducción de la expresión del gen housekeeping GAPDH y se calcularon mediante el método delta-delta Ct (ΔΔCt).

3.7.1. Extracción total de ARN

Homogenizado y lisado del tejido. Se siguieron las instrucciones del fabricante para obtener una concentración adecuada de ARN. Se utilizaron regiones cerebrales con un peso aproximado de 30 mg, las cuales fueron homogenizadas mecánicamente con 350 µl del tampón de lisis LBP.

Remoción del gADN y filtrado del lisado. Se colocó la columna de remoción NucleoSpin® gDNA (de color amarillo) en un tubo de recolección de 2 mL. Posteriormente, se transfirió el tejido homogenizado a la columna y se centrifugó a 11 000 × g durante 30 segundos. Se descartó la columna y se continuó con el filtrado

Ajuste de la unión del ARN. Se adicionó 100 µml de la solución BS al filtrado y se agitó vigorosamente o pipeteando varias veces, teniendo un volumen de 450 µL aproximadamente.

Unión al ARN. Se transfirió esta nueva mezcla (~450 µL) a la columna Nucleospin RNA Plus (de color azul), que está ensamblada a un tubo de colección. Se centrifugó a 11 000 x g por 15 segundos y luego se descartó el centrifugado.

Lavado y secado de la membrana de sílice. Se realizó en 3 lavados: ***Primer lavado***. Se añadió 200 µL de tampón WB1 a la columna NucleoSpin® RNA Plus. Luego se centrifugó a 11 000 x g por 15 segundos, después de esto, se desechó el filtrado al igual que el tubo de colección y finalmente se colocó la columna NucleoSpin® RNA Plus en un nuevo tubo de colección de 2 mL.

Segundo lavado. Se añadió 600 µL de tampón WB2 a la columna NucleoSpin® RNA Plus y se centrifugó a 11 000 x g por 15 segundos. Luego, se desechó el centrifugado y se colocó la columna de nuevo en el tubo de colección.

Tercer lavado. Se añadió 250 µL de tampón WB2 a la columna NucleoSpin® RNA Plus y se centrifugó a 11 000 x g por 2 minutos para secar completamente la membrana. Por último, se colocó la columna NucleoSpin® RNA Plus en un tubo de recolección sin nucleasas de 1,5 mL.

Eluir ARN. Se cambió el tubo de colección y se añadió 30 µL agua libre de RNAasas a la columna Nucleospin® RNA Plus y se centrifugó a 11 000 x g por 15 segundos. El centrifugado obtenido contiene el ARN total que se almacenó a -80 °C para su posterior análisis.

3.7.2. Síntesis de ADNc

Preparación de la mezcla de reacción: Se descongeló el buffer 5× UltraScript® y se preparó una mezcla maestra con 4 µL del buffer en mención, además de añadir 1 µL de UltraScript® 2.0 RTase, un volumen variable de ARN (el cual contiene entre 20 pg a 3.5 µg), 2 µL Mix de cebadores (anchored oligo(dT)18 + hexámeros) y se completó con agua libre de nucleasas hasta obtener un volumen de 20 µL. En paralelo se preparó un tubo control sin agregar la enzima RTasa (sin transcriptasa reversa), sino con buffer, y manteniendo los demás componentes constantes, es decir ARN y cebadores; posteriormente. Este control se sometió a los mismos ciclos de incubación, con el fin de descartar contaminación con ADN genómico

Incubación transcripción inversa y desnaturalización enzimática. Para ello se realizó 2 incubaciones a la mezcla ya preparada en el paso anterior; la primera, entre 50-55 °C durante 10-30 minutos y luego a 95 °C durante 10 minutos para desnaturalizar la RTasa.

3.7.3. Reacción de la cadena de la polimerasa cuantitva (qPCR).

Preparación del "master Mix". Se descongelaron los reactivos del kit y se preparó el "master mix" o mezcla maestra con 12 µL de FastGene IC Green Universal Mix 2X, 1.5 µL de cebador Forward (10 µM; 400 nM final), 1.5 µL de cebador Reverse (10 µM; 400 nM final), y agua grado PCR hasta completar 20 µL de mezcla para cada muestra.

Preparación de reacciones individuales: El *master mix* fue distribuido en placas de termociclación para PCR, añadiéndose el ADN/cDNA correspondiente a cada reacción hasta completar el volumen final. Las mezclas se homogeneizaron mediante pipeteo suave, evitando la formación de burbujas, posteriormente se sellaron las placas y se colocaron en el termociclador.

Termociclado: Las reacciones se sometieron a un ciclo inicial de desnaturalización a 95 °C durante 2 minutos, seguido de 40 ciclos de templado a 95 °C por 5 segundos y alineamiento/extensión a 65 °C durante 30 segundos

3.8. Análisis de la información

Los datos se analizaron con GraphPad Prism 8 (software GraphPad, Boston, MA, EE. UU.). Los resultados se normalizaron con respecto al control y se presentan como media ± error estándar de la media (SEM). Se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías para evaluar los efectos de la gran altitud y la duración de la exposición (1, 3, 7, 14 y 28 días), seguido de la prueba *post hoc* de Tukey para comparaciones múltiples. Las diferencias significativas, debido al efecto de la gran altitud se indicaron con asteriscos ($*p < 0,05$, $**p < 0,01$ o $***p < 0,001$). Las diferencias estadísticamente significativas debidas a la duración de la exposición a la misma altitud se denotaron con letras diferentes (a, b, c, d y $p < 0,05$).

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Prueba de hipótesis

4.1.1. Hipótesis general

- La hipoxia ambiental de gran altitud y el tiempo de exposición incrementan la inducción génica del complejo inflamasoma en regiones cerebrales de ratas expuestas a 4200 m s. n. m., durante los primeros 7 días de exposición.

4.1.2. Hipótesis específicas

- El efecto de la hipoxia ambiental de gran altitud y el tiempo de exposición incrementan la inducción génica de NLRP3 en el cuerpo estriado, hipocampo, corteza e hipotálamo de ratas expuestas a 4200 m.s.n.m., durante los primeros 7 días.
- El efecto de la hipoxia ambiental de gran altitud y el tiempo de exposición incrementan la inducción génica de IL-6 en el cuerpo estriado, hipocampo, corteza e hipotálamo de ratas expuestas a 4200 m.s.n.m., durante los primeros 7 días.
- El efecto de la hipoxia ambiental de gran altitud y el tiempo de exposición incrementan la inducción génica de IL-1β en el cuerpo estriado, hipocampo, corteza e hipotálamo de ratas expuestas a 4200 m.s.n.m., durante los primeros 7 días.
- El efecto de la hipoxia ambiental de gran altitud y el tiempo de exposición incrementan la inducción génica de HIF-1α en el cuerpo estriado, hipocampo, corteza e hipotálamo de ratas expuestas a 4200 m.s.n.m., durante los primeros 7 días.

4.1.3. Hipótesis estadísticas

- **Hipótesis nula (H_0):** No existen diferencias significativas en la inducción génica de NLRP3, IL-6, IL-1β y HIF-1α en el cuerpo estriado, hipocampo, corteza prefrontal e hipotálamo entre las ratas expuestas a normoxia y aquellas expuestas a hipoxia ambiental de gran altitud (4200 m s. n. m.), ni en función del tiempo de exposición (1, 3, 7, 14 y 28 días).

- **Hipótesis alternativa (H_1):** Existen diferencias significativas en la inducción génica de NLRP3, IL-6, IL-1β y HIF-1α en el cuerpo estriado, hipocampo, corteza prefrontal e hipotálamo en función de la condición de gran altitud y del tiempo de exposición.

4.2. Presentación de Resultados

4.2.1. Inducción génica de NLRP3 en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental de gran altitud.

Al evaluar la inducción génica de NLRP3 a nivel del cuerpo estriado (Figura 12), por efecto de la exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud (barras celestes), en comparación con el grupo control (barras moradas), se observó un aumento significativo a partir del día 7 (29%) en adelante; mientras que, al evaluar la inducción génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud, también se encontraron aumentos significativos a partir del día 7.

Gen	Altitud	Tiempo de exposición (días)				
		1	3	7	14	28
NLRP3	161 m	1.00	1.03	1.05	1.06	1.05
	4200m	1.04	1.01	1.34	1,36	1.66
Variación por efecto de la gran altitud		↑ 4%	↓ 2%	↑ 29%*	↑ 30%*	↑ 61%***

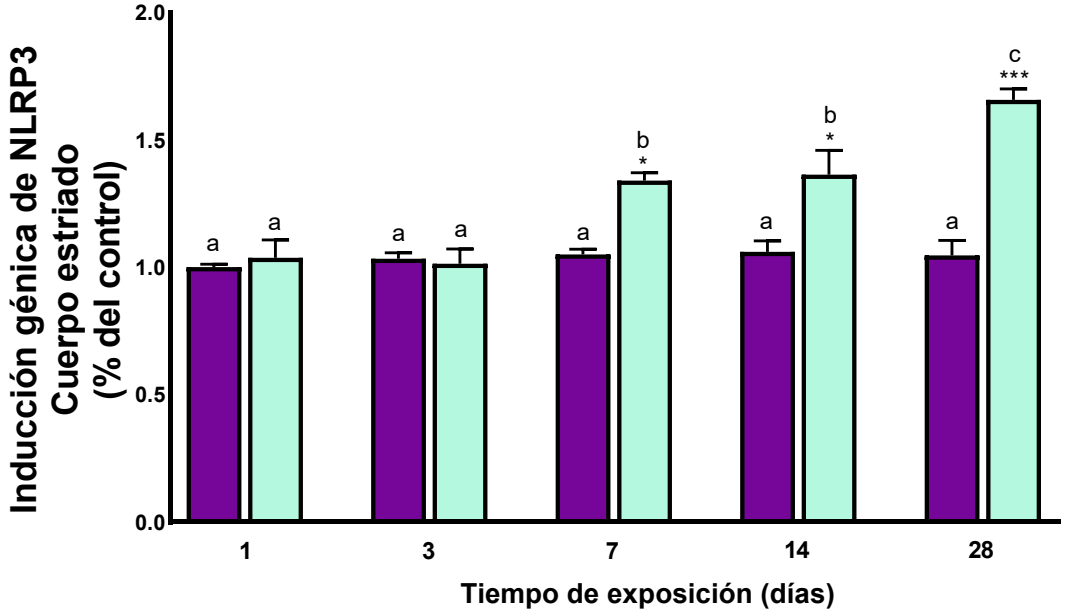

Figura 12. Inducción génica de NLRP3 a nivel del cuerpo estriado de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos

se expresan como porcentaje de los valores de control y se presentan como media ± SEM. Las diferencias significativas entre los grupos a gran altitud (barras celestes) y control (barras moradas) se indican con *p ≤ 0,05 y ***p ≤ 0,001. Mientras que las diferencias significativas debidas al efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud se indican con las letras a, b, c (p ≤ 0,05). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Tukey.

Al evaluar la inducción génica de NLRP3 a nivel del hipocampo (Figura 13), por efecto de la exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud (barras celestes), en comparación con el grupo control (barras moradas), se observó un aumento significativo a partir del día 3 (45%) en adelante; mientras que, al evaluar la inducción génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud, también se encontraron aumentos significativos a partir del día 3.

Gen	Altitud	Tiempo de exposición (días)				
		1	**3**	**7**	**14**	**28**
NLRP3	161 m	1,00	0.94	0.97	1.02	0.97
	4200m	0.95	1.39	1.55	1.44	1.21
Variación por efecto de la gran altitud		↓ 5%	↑ 45%***	↑ 58%***	↑ 42%***	↑ 24%***

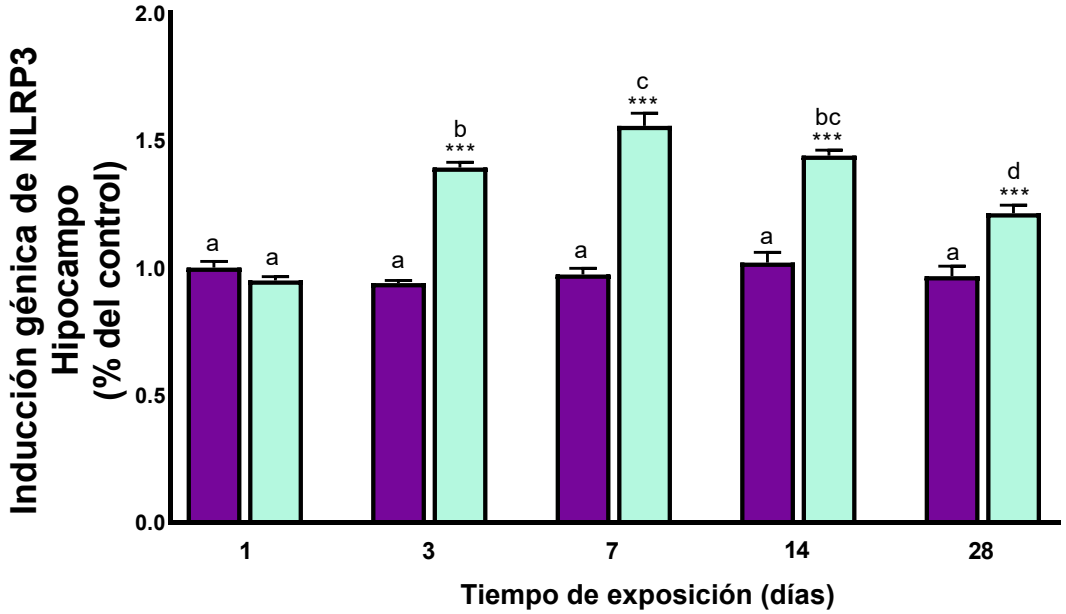

Figura 13. Inducción génica de NLRP3 a nivel del hipocampo de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan como porcentaje de los valores de control y se presentan como media ± SEM. Las

diferencias significativas entre los grupos a gran altitud (barras celestes) y control (barras moradas) se indican con ***p ≤ 0,001. Mientras que las diferencias significativas debidas al efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud se indican con las letras a, b, c, d (p ≤ 0,05). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Tukey.

Al evaluar la inducción génica de NLRP3 en la corteza frontal (Figura 14), por efecto de la exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud (barras celestes) no se observaron diferencias significativas en comparación con el grupo control (barras moradas) en ninguno de los días de exposición; mientras que, al evaluar la inducción génica en función del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud, tampoco se encontraron variaciones significativas en ninguno de los días.

Gen	Altitud	Tiempo de exposición (días)				
		1	**3**	**7**	**14**	**28**
NLRP3	161 m	1.00	1.06	1.07	1.07	0.99
	4200m	1.06	1.21	1..07	1.12	1.11
Variación por efecto de la gran altitud		↑ 6%	↑ 15%	0%	↑ 5%	↑ 12%

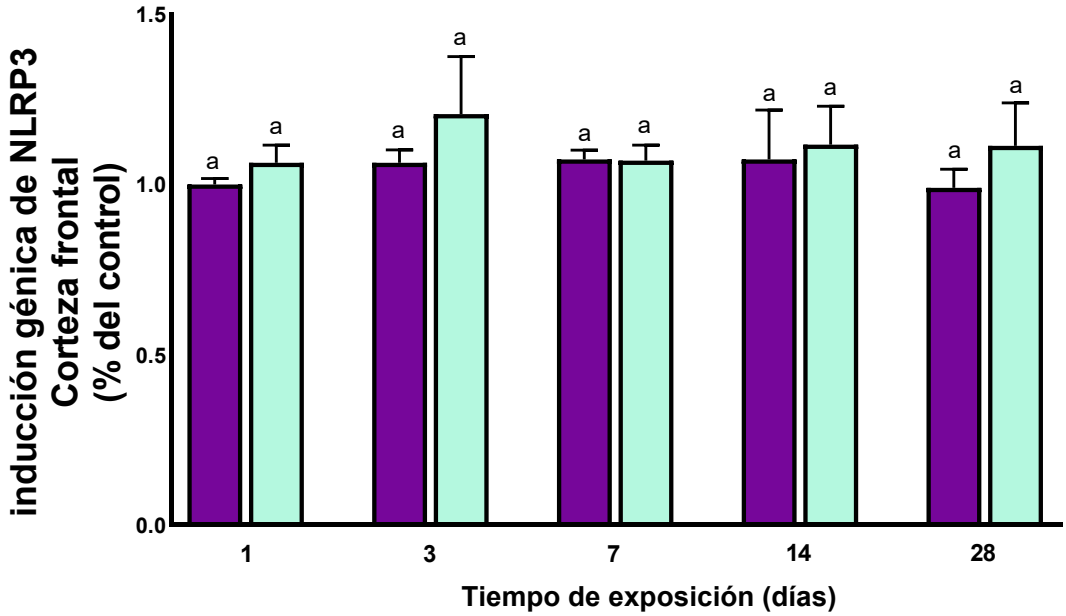

Figura 14. Inducción génica de NLRP3 a nivel de la corteza frontal de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan como porcentaje de los valores de control y se presentan como media ± SEM. Las diferencias significativas debidas al efecto del tiempo de exposición a la hipoxia

ambiental de gran altitud se indican con la letra a ($p \leq 0,05$). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Tukey.

Al evaluar la inducción génica de NLRP3 a nivel del hipotálamo (Figura 15), por efecto de la exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud (barras celestes), en comparación con el grupo control (barras moradas), se observó un aumento significativo desde el día 1 (92%) en adelante; mientras que, al evaluar la inducción génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud, se encontraron aumentos significativos al día 3 y al día 7.

Gen	Altitud	Tiempo de exposición (días)				
		1	3	7	14	28
NLRP3	161 m	1.00	0.97	1.00	0.99	0.99
	4200m	1.92	2.29	2.63	1.62	1.68
Variación por efecto de la gran altitud		↑ 92%***	↑ 132%***	↑ 163%***	↑ 63%***	↑ 69%***

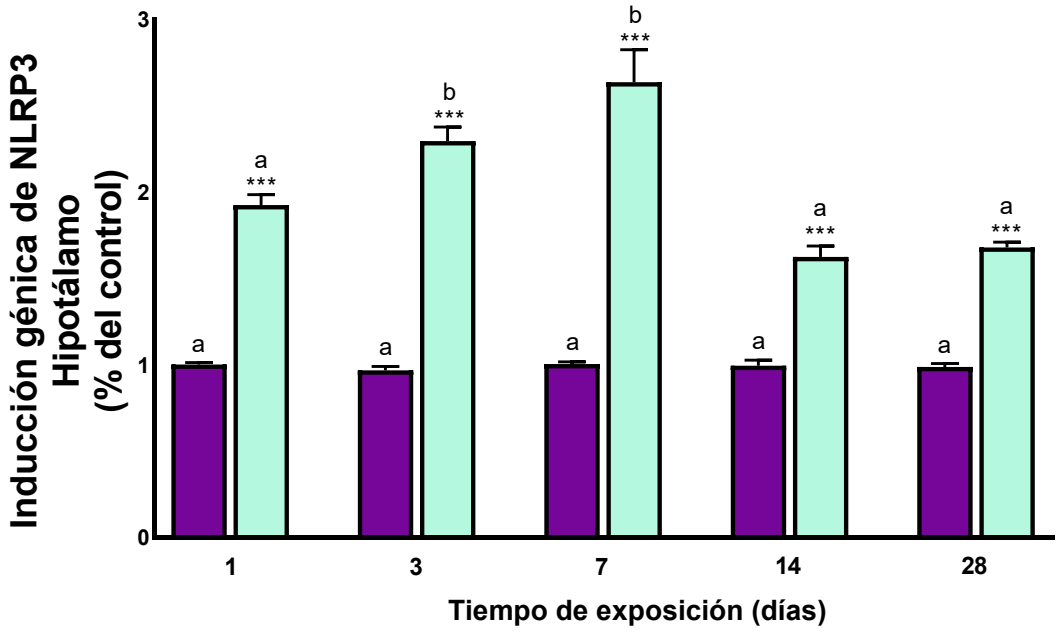

Figura 15. Inducción génica de NLRP3 a nivel del hipotálamo de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan como porcentaje de los valores de control y se presentan como media ± SEM. Las diferencias significativas entre los grupos a gran altitud (barras celetstes) y control (barras moradas) se indican con ***$p \leq 0,001$. Mientras que las diferencias significativas debidas al efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud se indican con la

letra a ($p \leq 0,05$). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Tukey.

4.2.2. Inducción génica de IL-6 en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental de gran altitud.

Al evaluar la inducción génica de IL-6 a nivel del cuerpo estriado (Figura 16), por efecto de la exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud (barras celestes), respecto al grupo control (barras moradas), se observó un aumento significativo desde el día 1 (209%) en adelante; mientras que, al evaluar la inducción génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud, se encontró un aumento significativo solo al día 14.

Gen	Altitud	Tiempo de exposición (días)				
		1	3	7	14	28
IL-6	161 m	1.00	1.03	1.02	0.98	1.00
	4200m	3.09	3.20	2.86	3.47	2.87
Variación por efecto de la gran altitud		↑ 209%***	↑ 217%***	↑ 184%***	↑ 249%***	↑ 187%***

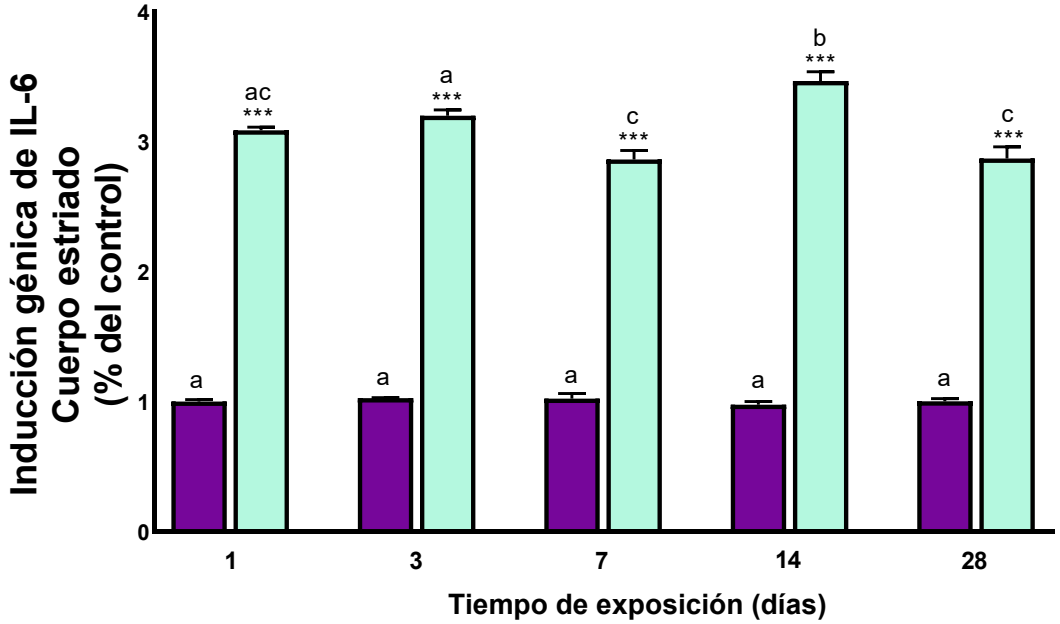

Figura 16. Inducción génica de IL-6 a nivel del cuerpo estriado de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan como porcentaje de los valores de control y se presentan como media ± SEM. Las diferencias significativas entre los grupos a gran altitud (barras celetes) y control (barras

moradas) se indican con ***p ≤ 0,001. Mientras que las diferencias significativas debidas al efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud se indican con las letras a, b, c (p ≤ 0,05). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Tukey.

Al evaluar la inducción génica de IL-6 a nivel del hipocampo (Figura 17) por efecto de la exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud (barras celestes), respecto al grupo control (barras moradas), se observó un aumento significativo desde el día 1 (96%) en adelante; mientras que, al evaluar la inducción génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud se encontraron aumentos significativos al día 3, al día 7 y al día 14.

Gen	Altitud	Tiempo de exposición (días)				
		1	3	7	14	28
IL-6	161 m	1.00	1.03	0.99	0.99	0.98
	4200m	1.96	3.21	2.62	2.96	1.98
Variación por efecto de la gran altitud		↑ 96%***	↑ 128%***	↑ 163%***	↑ 197%***	↑ 100%***

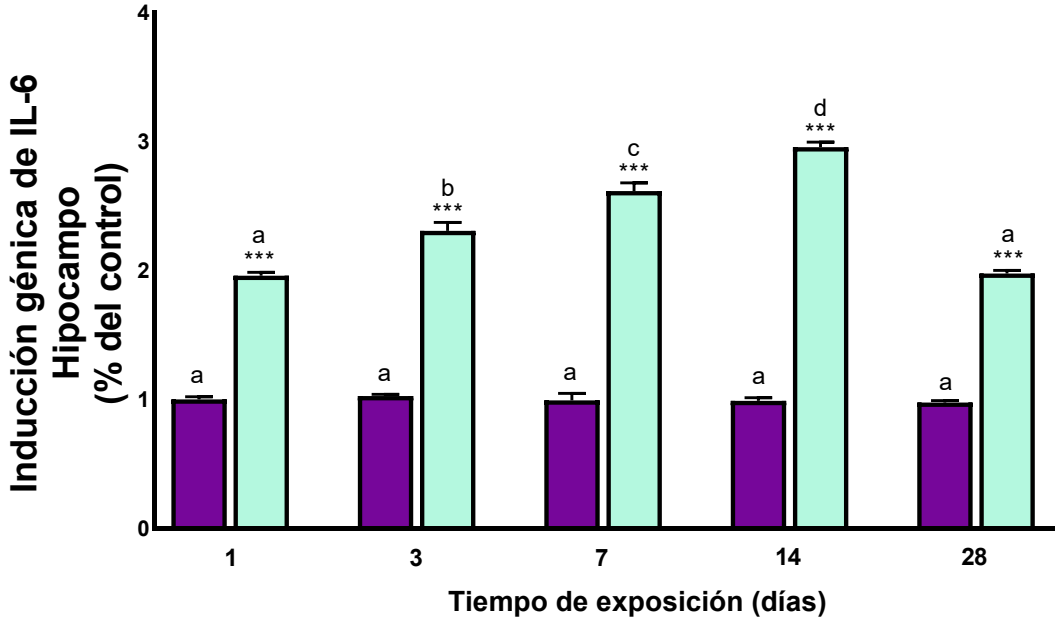

Figura 17. Inducción génica de IL-6 a nivel del hipocampo de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan como porcentaje de los valores de control y se presentan como media ± SEM. Las diferencias significativas entre los grupos a gran altitud (barras celestes) y control (barras moradas) se indican con ***p ≤ 0,001. Mientras que las diferencias significativas debidas

al efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud se indican con las letras a, b, c, d ($p \leq 0,05$). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Tukey.

Al evaluar la inducción génica de IL-6 a nivel de la corteza frontal (Figura 18) por efecto de la exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud (barras celestes), respecto al grupo control (barras moradas), se observó un aumento significativo desde el día 1 (174%) en adelante; mientras que, al evaluar la inducción génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud, se encontró un aumento significativo solo al día 14.

Gen	Altitud	Tiempo de exposición (días)				
		1	3	7	14	28
IL-6	161 m	1.00	0.99	0.99	0.99	1.03
	4200m	2.74	2.32	3.40	4.23	3.28
Variación por efecto de la gran altitud		↑ 174%***	↑ 133%**	↑ 241%***	↑ 324%***	↑ 138%***

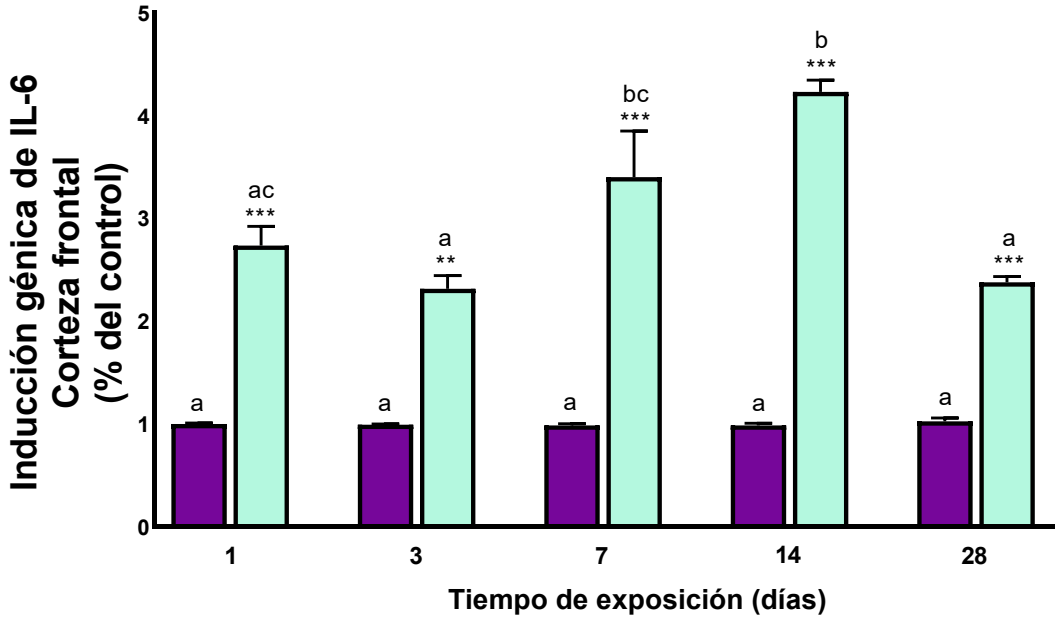

Figura 18. Inducción génica de IL-6 a nivel de la corteza frontal de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan como porcentaje de los valores de control y se presentan como media ± SEM. Las diferencias significativas entre los grupos a gran altitud (barras celestes) y control (barras moradas) se indican con **$p \leq 0,01$ y ***$p \leq 0,001$. Mientras que las diferencias significativas debidas al efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran

altitud se indican con las letras a, b, c ($p \leq 0,05$). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Tukey.

Al evaluar la inducción génica de IL-6 a nivel del hipotálamo (Figura 19) por efecto de la exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud (barras celestes), respecto al grupo control (barras moradas), se observó un aumento significativo desde el día 1 (85%) hasta el día 14 (157%), mientras que, al evaluar la inducción génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud, se encontraron aumentos significativos al dia 3, al día 7 y al día 14.

Gen	Altitud	Tiempo de exposición (días)				
		1	3	7	14	28
IL-6	161 m	1.00	1.02	0.99	1.01	1.02
	4200m	1.85	2.82	2.65	2.58	1.02
Variación por efecto de la gran altitud		↑ 85%**	↑ 180%***	↑ 166%***	↑ 157%***	0%

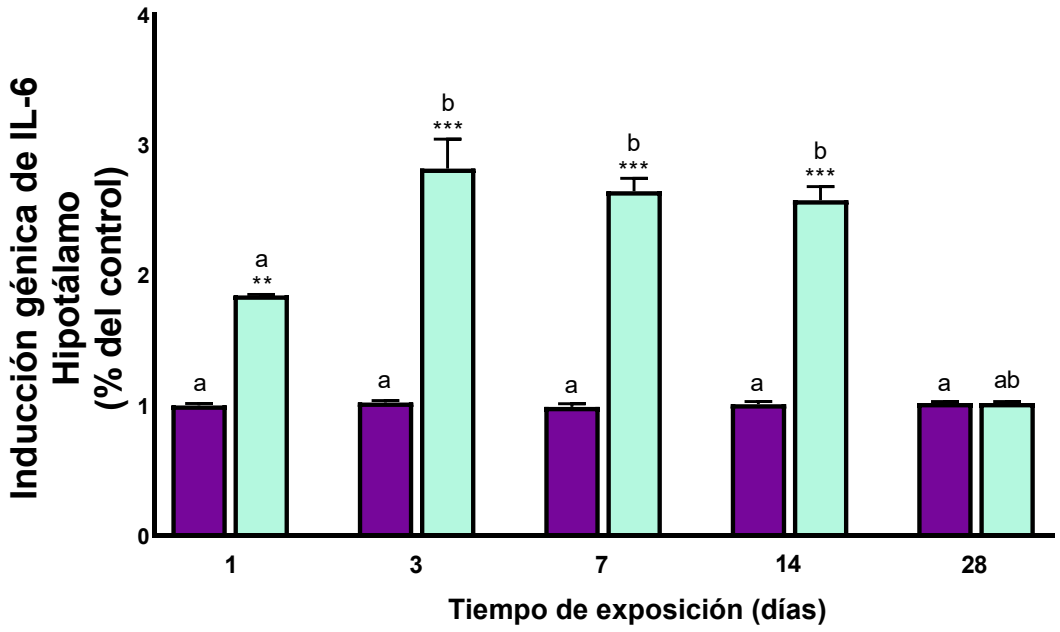

Figura 19. Inducción génica de IL-6 a nivel del hipotálamo de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan como porcentaje de los valores de control y se presentan como media ± SEM. Las diferencias significativas entre los grupos a gran gran altitud (barras celestes) y control (barras moradas) se indican con **$p \leq 0,01$ y ***$p \leq 0,001$. Mientras que las diferencias significativas debidas al efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran

altitud se indican con las letras a, b ($p \leq 0,05$). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Tukey.

4.2.3. Inducción génica de IL-1β en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental de gran altitud.

Al evaluar la inducción génica de IL-1β a nivel del cuerpo estriado (Figura 20) por efecto de la exposición hipoxia ambiental de gran altitud (barras celestes), respecto al grupo control (barras moradas), se observó un aumento significativo desde el día 1 (50%) en adelante; mientras que, al evaluar la inducción génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud, se encontraron aumentos significativos en todos los días.

Gen	Altitud	Tiempo de exposición (días)				
		1	3	7	14	28
IL-1β	161 m	1.00	1.03	1.04	0.99	1.03
	4200m	1.50	3.02	2.49	2.86	3.22
Variación por efecto de la gran altitud		↑ 50%**	↑ 199%***	↑ 145%***	↑ 187%***	↑ 219%***

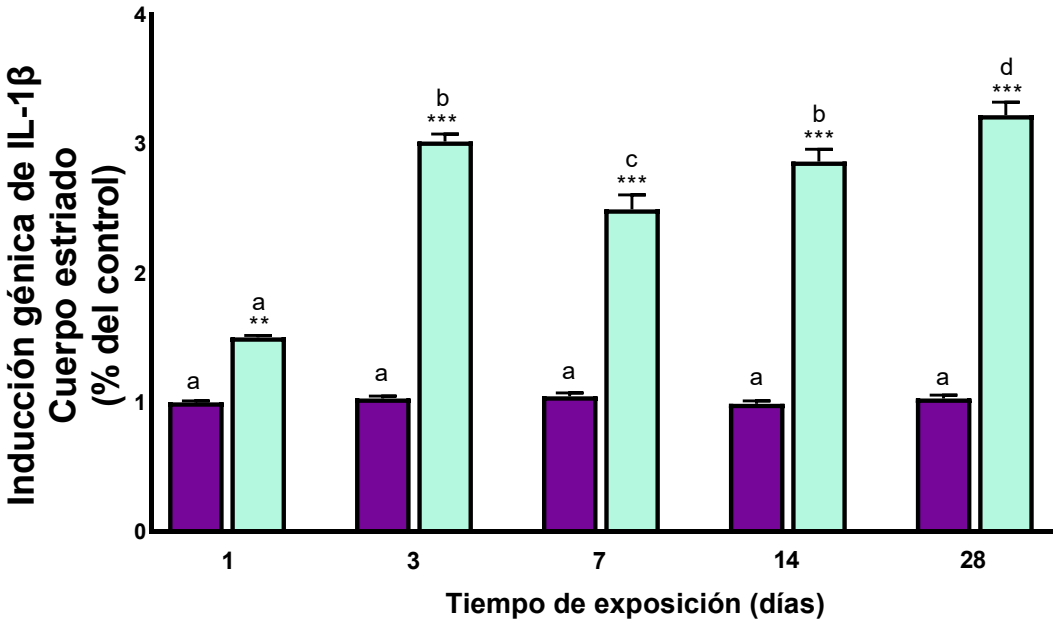

Figura 20. Inducción génica de IL-1β a nivel del cuerpo estriado de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan como porcentaje de los valores de control y se presentan como media ± SEM. Las diferencias significativas entre los grupos a gran altitud (barras celestes) y control

(barras moradas) se indican con **p ≤ 0,01 y ***p ≤ 0,001. Mientras que las diferencias significativas debidas al efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud se indican con la letra a, b, c, d (p ≤ 0,05). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Tukey.

Al evaluar la inducción génica de IL-1β a nivel del hipocampo (Figura 21) por efecto de la exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud (barras celestes), respecto al grupo control (barras moradas), se observó un aumentó significativo desde el día 1 (25%); mientras que, al evaluar la inducción génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud, se encontraron aumentos significativos en todos los días.

Gen	Altitud	Tiempo de exposición (días)				
		1	3	7	14	28
IL-1β	161 m	1.00	1.00	1.00	0.98	1.00
	4200m	1.25	1.72	1.92	1.94	2.96
Variación por efecto de la gran altitud		↑ 25%***	↑ 72%***	↑ 92%***	↑ 96%***	↑ 196%***

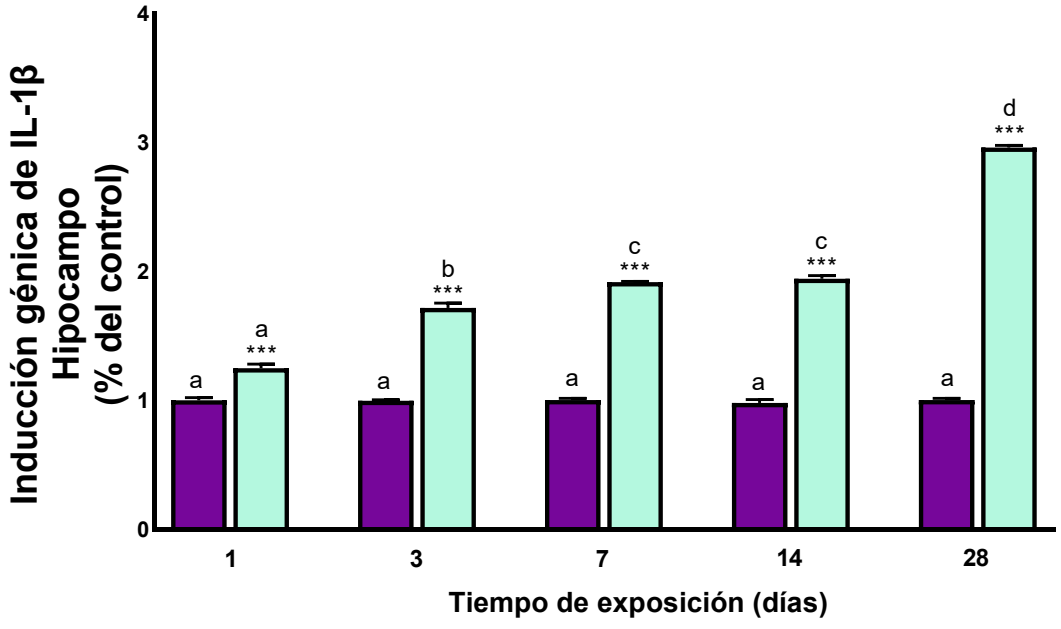

Figura 21. Inducción génica de IL-1β a nivel del hipocampo de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan como porcentaje de los valores de control y se presentan como media ± SEM. Las diferencias significativas entre los grupos a gran altitud (barras celestes) y control (barras

moradas) se indican con ***p ≤ 0,001. Mientras que las diferencias significativas debidas al efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud se indican con las letras a, b, c, d (p ≤ 0,05). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Tukey.

Al evaluar la inducción génica de IL-1β a nivel de la corteza frontal (Figura 22) por efecto de la exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud (barras celestes), respecto al grupo control (barras moradas), se observó un aumento significativo desde el día 1 (94%) en adelante, mientras que, al evaluar la inducción génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud, se encontraron aumentos significativos al día 7, al día 14 y al dia 28.

Gen	Altitud	Tiempo de exposición (días)				
		1	**3**	**7**	**14**	**28**
IL-1β	161 m	1.00	0.98	1.00	0.99	1.04
	4200m	1.94	1.52	3.09	3.33	3.23
Variación por efecto de la gran altitud		↑ 94%***	↑ 54%*	↑ 209%***	↑ 234%***	↑ 219%***

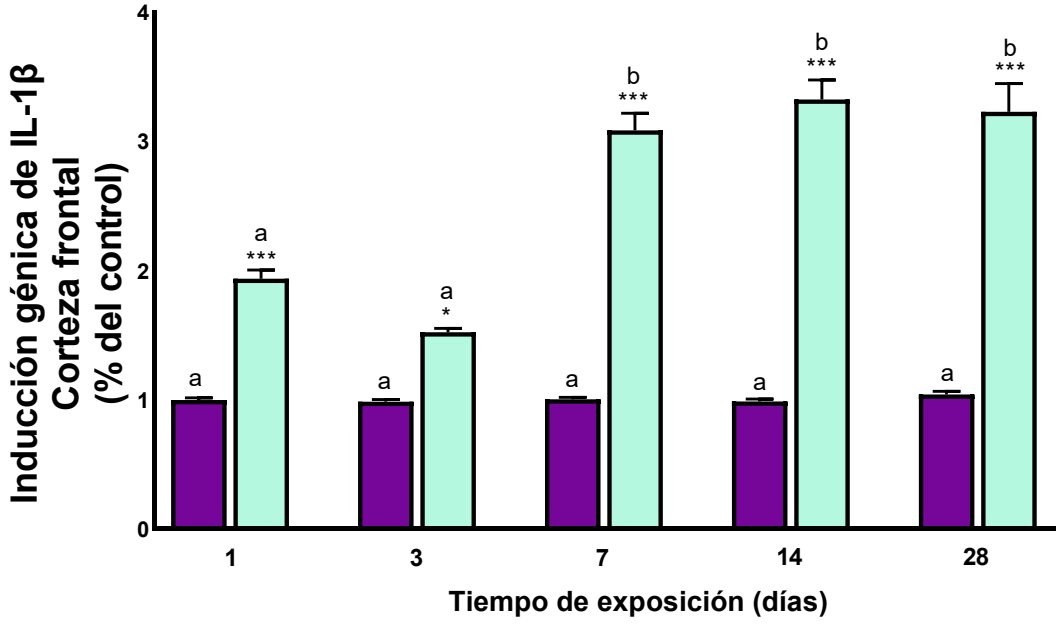

Figura 22. Induccion génica de IL-1β a nivel de la corteza frontal de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan como porcentaje de los valores de control y se presentan como media ± SEM. Las diferencias significativas entre los grupos a gran altitud (barras celestes) y control

(barras moradas) se indican con *p ≤ 0,05 y ***p ≤ 0,001. Mientras que las diferencias significativas debidas al tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud se indican con las letras a y b (p ≤ 0,05). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Tukey.

Al evaluar la inducción génica de IL-1β a nivel del hipotálamo (Figura 23), por efecto de la exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud (barras celestes), respecto al grupo control (barras moradas), se observó un aumentó significativo desde el día 7 (62%) en adelante; mientras que, al evaluar la inducción génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud, se encontraron aumentos significativos al día 7, al día 14 y al día 28.

Gen	Altitud	Tiempo de exposición (días)				
		1	**3**	**7**	**14**	**28**
IL-1β	161 m	1.00	1.03	1.01	1.02	0.99
	4200m	1.07	1.37	1.63	1.64	1.75
Variación por efecto de la gran altitud		↑ 7%	↑ 34%	↑ 62%**	↑ 62%**	↑ 76%***

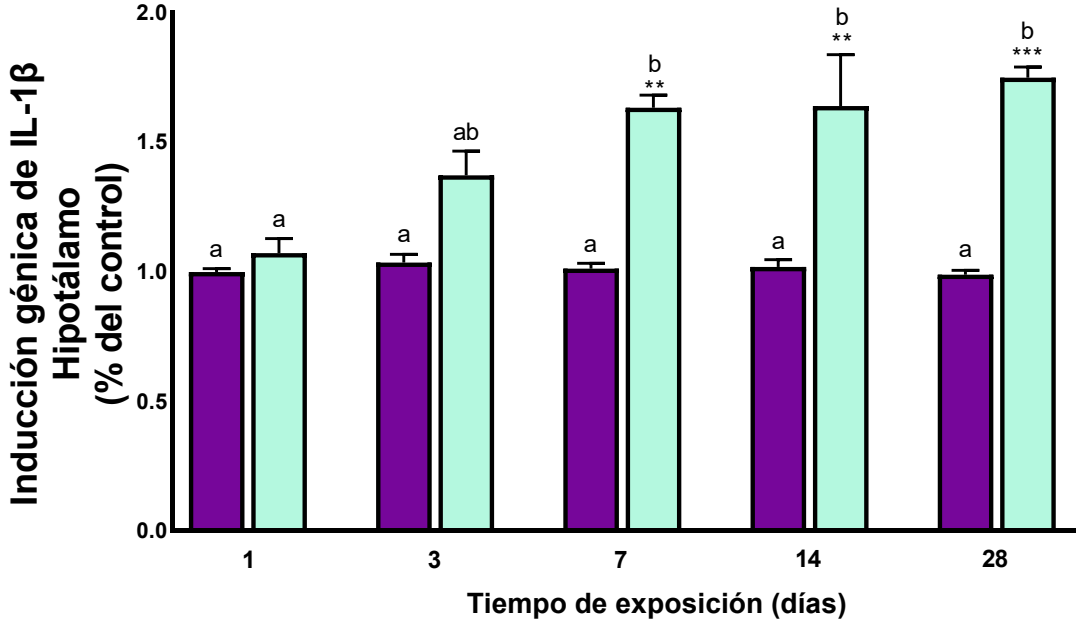

Figura 23. Inducción génica de IL-1β a nivel del hipotálamo de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan como porcentaje de los valores de control y se presentan como media ± SEM. Las diferencias significativas entre los grupos a gran altitud (barras celetes) y control (barras

moradas) se indican con **p ≤ 0,01 y ***p ≤ 0,001. Mientras que las diferencias significativas debidas al efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud se indican con las letras a y b (p ≤ 0,05). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Tukey.

4.2.4. Inducción génica de HIF-1α en regiones cerebrales de ratas expuestas a hipoxia ambiental de gran altitud.

Al evaluar la inducción génica de HIF-1α a nivel del cuerpo estriado (Figura 24) por efecto de la exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud (barras celestes), respecto al grupo control (barras moradas), se observó un aumento significativo desde el día 1 (51%) en adelante; mientras que, al evaluar la inducción génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud, se encontraron aumentos significativos al día 7, al día 14 y al día 28.

Gen	Altitud	Tiempo de exposición (días)				
		1	3	7	14	28
HIF-1α	161 m	1.00	1.02	1.01	1.01	1.02
	4200m	1.51	1.69	2.17	1.96	1.79
Variación por efecto de la gran altitud		↑ 51%***	↑ 67%***	↑ 116%***	↑ 95%***	↑ 77%***

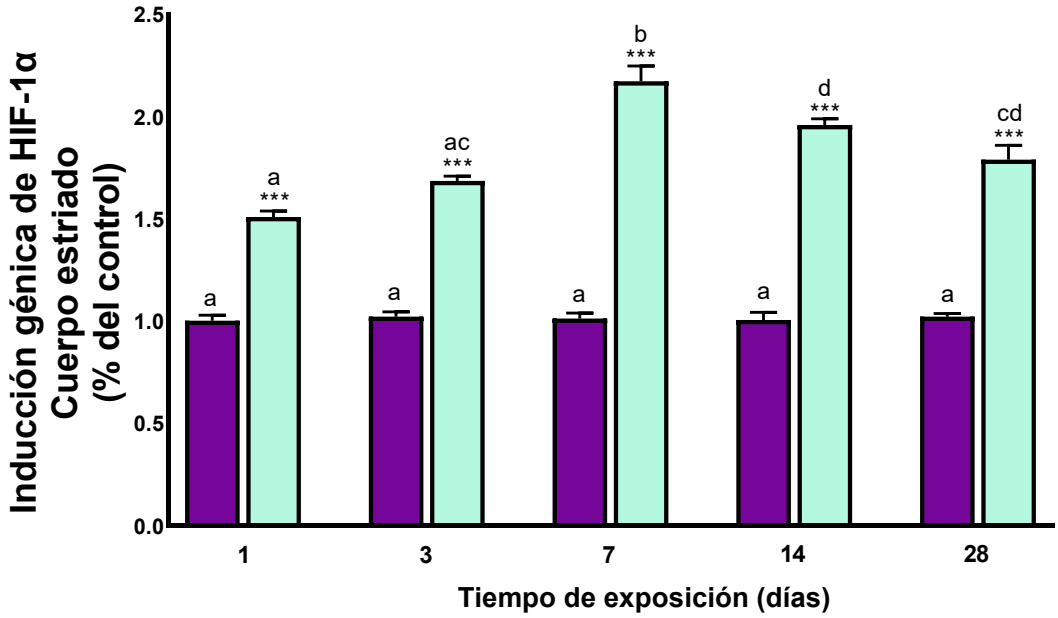

Figura 24. Inducción génica de HIF-1α a nivel del cuerpo estriado de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos

se expresan como porcentaje de los valores de control y se presentan como media ± SEM. Las diferencias significativas entre los grupos a gran altitud (barras celestes) y control (barras moradas) se indican con ***p ≤ 0,001. Mientras que las diferencias significativas debidas al efecto del tiempo de de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud se indican con las letras a, b, c, d (p ≤ 0,05). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Tukey.

Al evaluar la inducción génica de HIF-1α a nivel del hipocampo (Figura 25) por efecto de la exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud (barras celestes), respecto al grupo control (barras moradas), no se observaron variaciones significativas en ninguno de los días de exposición; mientras que, al evaluar la inducción génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud, tampoco se encontraron variaciones significativas en ninguno de los días.

Gen	Altitud	Tiempo de exposición (días)				
		1	3	7	14	28
HIF-1α	161 m	1.00	0.83	0.93	0.77	0.87
	4200m	1.27	0.76	1.22	0.81	0,92
Variación por efecto de la gran altitud		↑ 27%	↓ 7%	↑ 29%	↑ 4%	↑ 5%

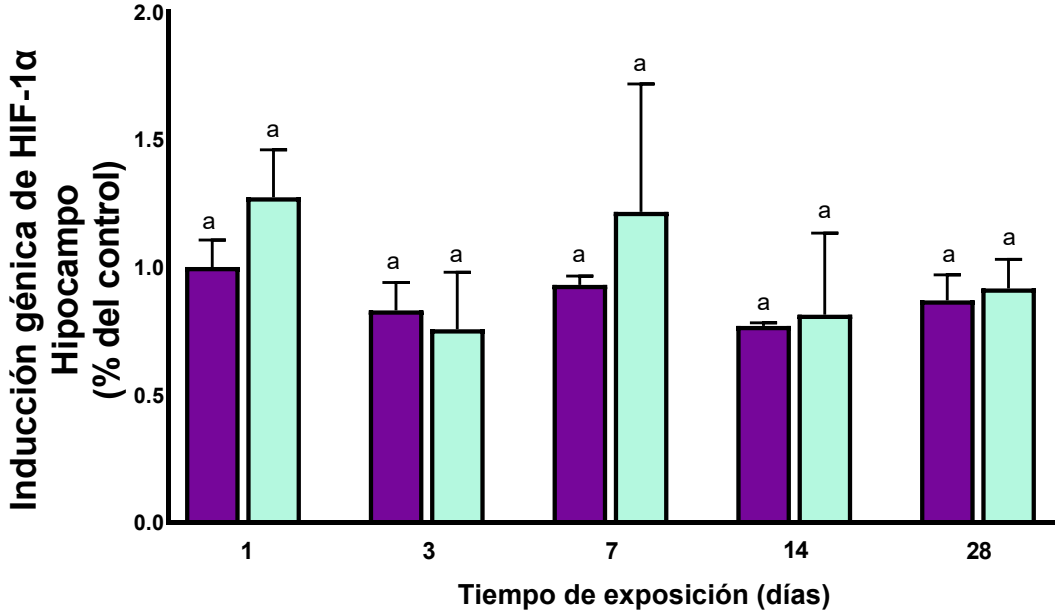

Figura 25. Inducción génica de HIF-1α a nivel del hipocampo de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan

como porcentaje de los valores de control y se presentan como media ± SEM. Las diferencias significativas debidas al efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud se indican con la letra a ($p \leq 0,05$). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Tukey.

Al evaluar la inducción génica de HIF-1α a nivel de la corteza frontal (Figura 26) por efecto de la exposicion a hipoxia ambiental de gran altitud (barras celestes), respecto al grupo control (barras moradas), se observó un aumento significativo al día 1 (86%) y al día 28 (94%); mientras que, al evaluar la inducción génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud, no se encontraron variaciones significativas en ninguno de los días.

Gen	Altitud	Tiempo de exposición (días)				
		1	**3**	**7**	**14**	**28**
HIF-1α	161 m	1.00	1.02	0.95	0.99	1.03
	4200m	1.86	1.51	1.60	1.19	1.97
Variación por efecto de la gran altitud		↑ 86%**	↑ 49%	↑ 65%	↑ 20%	↑ 94%**

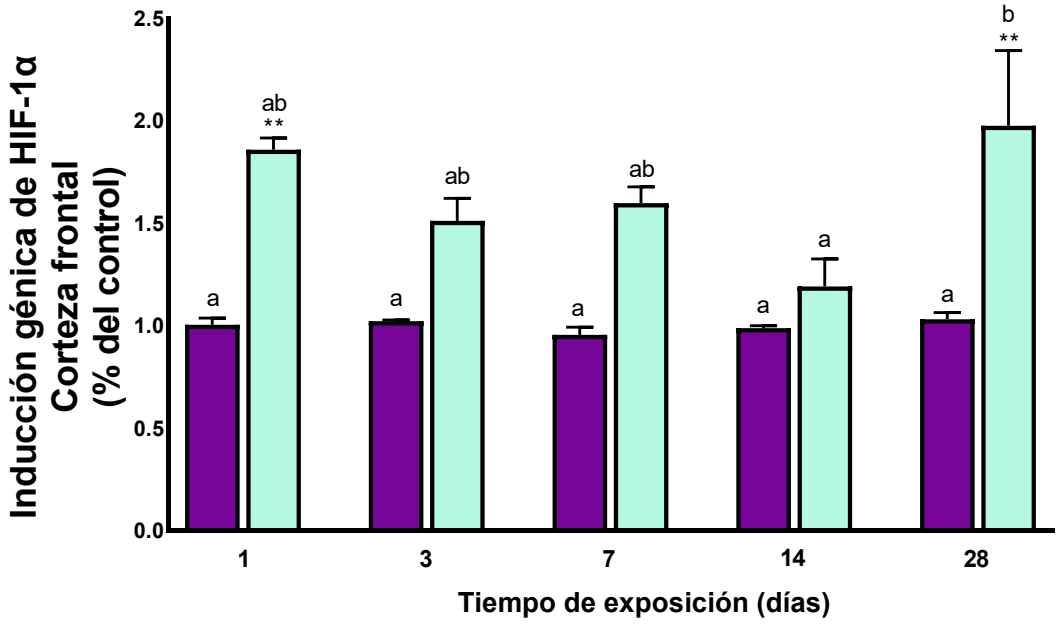

Figura 26. Inducción génica de HIF-1α a nivel de la corteza frontal de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan como porcentaje de los valores de control y se presentan como media ± SEM. Las diferencias significativas entre los grupos a gran altitud (barras celestes) y control

(barras moradas) se indican con **p ≤ 0,01. Mientras que las diferencias significativas debidas al efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud se indican con las letras a y b (p ≤ 0,05). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Tukey.

Al evaluar la inducción génica de HIF-1α a nivel del hipotálamo (Figura 27) por efecto de la exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud (barras celestes), respecto al grupo control (barras moradas), se observó un aumento significativo desde el día 1 (155%) hasta el día 7 (151%); mientras que, al evaluar la inducción génica por efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud, se encontraron disminuciones significativas al día 14 y al día 28.

Gen	Altitud	Tiempo de exposición (días)				
		1	3	7	14	28
HIF-1α	161 m	1.00	1.05	1.02	1.03	1.00
	4200m	2.55	2.18	2.53	1.67	1.49
Variación por efecto de la gran altitud		↑ 155%***	↑ 113%**	↑ 151%***	↑ 64%	↑ 49%

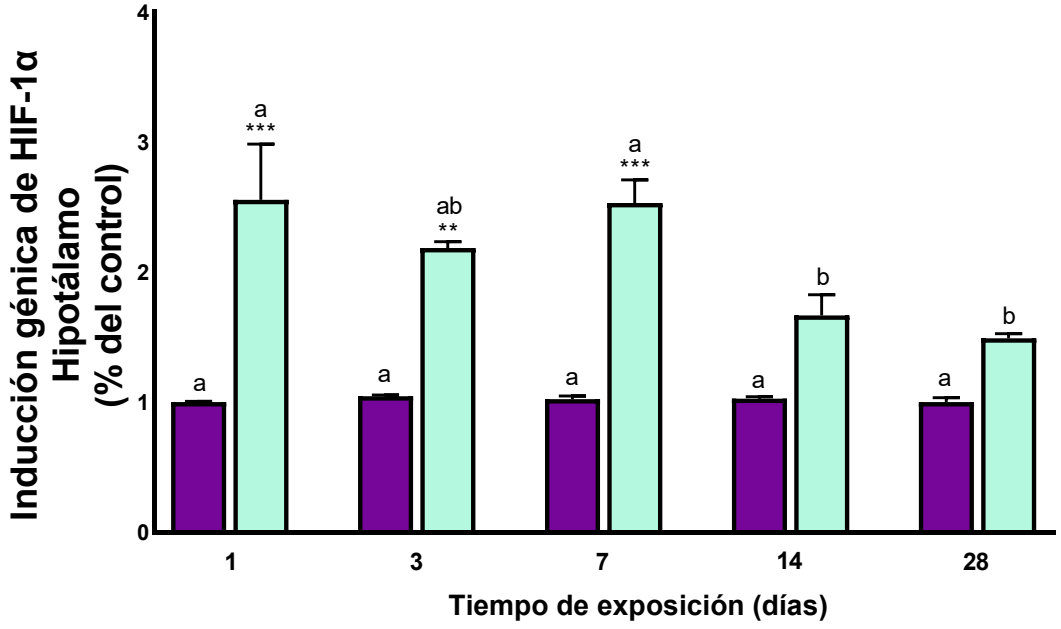

Figura 27. Inducción génica de HIF-1α a nivel del hipotálamo de ratas tras la exposición a hipoxia ambiental a 4200 m.s.n.m., durante 1, 3, 7, 14 y 28 días. Los datos se expresan como porcentaje de los valores de control y se presentan como media ± SEM. Las diferencias significativas entre los grupos a gran altitud (barras celestes) y control (barras

moradas) se indican con **p ≤ 0,01 y ***p ≤ 0,001. Mientras que las diferencias significativas debidas al efecto del tiempo de exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud se indican con las letras a y b (p ≤ 0,05). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de dos vías seguido de la prueba post hoc de Tukey.

4.3. Discusión

El presente estudio demuestra que la exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud (4 200 m.s.n.m.), incrementa la inducción génica de las vías del complejo inflamasoma en diversas regiones cerebrales de ratas. La fisiología nerviosa es muy sensible a la concentración tisular de O_2, lo que ocasiona que su variación repercuta significativamente en el mantenimiento de la homeostasis local y su disfunción (Carod-Artal, 2014).

Es sabido que las regiones cerebrales tienen su propia citoarquitectura, por ese motivo, la biodisponibilidad y sensibilidad al O_2 no son uniformes en todo el cerebro, postulando así que las áreas corticales primarias son las que necesitan una demanda oxigénica y metabólica mayor en comparación con otras regiones cerebrales (Schmid et al, 2019).

En condiciones naturales la exposición a la gran altitud, la reducción de la PO_2, las bajas temperaturas y humedad, junto con el incremento de la radiación UV, afectan de manera significativa la fisiología cerebral tanto en exposiciones agudas como crónicas (Gallagher & Hackett, 2004). En este entorno, la zona de neutralidad térmica, sobretodo en mamíferos, se ve ampliamente superada por las condiciones a gran alitud, lo que obliga a un mayor gasto energético para mantener la homeotermia, potenciando los efectos de la hipoxia.

El incremento de la inducción génica del complejo inflamasoma observada en nuestro estudio en el hipocampo, cuerpo estriado y corteza frontal estaría relacionado directamente con los resultados reportados en estudios a nivel de mismas regiones cerebrales de ratas expuestas a cámaras hipobáricas durante distintos períodos de exposición a la hipoxia simulada, en donde se evaluaron mediadores de estrés oxidativo, radicales libres, óxido nítrico, daño lipídico y oxidación proteica, mostrando aumentos

significativos de estos, tras 7 y 14 días de exposición (Maiti et al., 2010). Estos hallazgos evidencian la conexión entre el estrés oxidativo y la activación de inflamasomas frente a la hipoxia, sugiriendo que la disminución de las defensas antioxidantes potencia un estado proinflamatorio cerebral sostenido (Maiti et al., 2006).

Estudios realizados en tejido cerebral de modelos murinos sometidos a accidente cerebrovascular por oclusión de la arteria cerebral han evidenciado que el cerebro es capaz de desencadenar una respuesta inflamatoria local, lo cual refleja su alta susceptibilidad a la neuroinflamación asociada a la alteración vasogénica (Feng et al., 2017). En concordancia con ello, en nuestro estudio se observó un incremento significativo de la inducción génica del complejo inflamasoma en regiones como el cuerpo estriado, el hipocampo y el hipotálamo desde los primeros días de exposición a la hipoxia propia de la gran altitud, lo que respalda la idea de que estas áreas cerebrales presentan una marcada sensibilidad ante condiciones hipóxicas.

Si bien aún no se ha dilucidado por completo el mecanismo mediante el cual la hipoxia ambiental de gran altitud regula la inducción génica de NLRP3 en regiones cerebrales específicas, se plantea que dicha respuesta podría compartir similitudes con las rutas clásicas de activación del inflamasoma (Wen et al., 2023). Nuestros resultados respaldan una activación multifactorial, donde las condiciones hipóxicas alteran la homeostasis del SNC y favorecen la neuroinflamación, de forma comparable a la respuesta inmune innata frente a patógenos o daño tisular (Kelley et al., 2019; Yang et al., 2017), así como a procesos asociados a disfunción mitocondrial, estrés oxidativo y acumulación de desechos celulares (Bauernfeind et al., 2009). En conjunto, la hipoxia ambiental de gran altitud podría promover la activación del inflamasoma, comprometer la BHE, aumentar el estrés oxidativo y activar vías de muerte celular en el cerebro (Shi et al., 2019).

Nuestros resultados demuestran un incremento significativo de la inducción génica de NLRP3, generalmente a partir del día 7 en regiones como el cuerpo estriado, hipocampo e hipotálamo, encontrando incrementos significativos más tempranos a nivel del hipotálamo desde el día 1 y desde el día 3 en hipocampo. Por otro lado, en la corteza frontal no se observaron cambios relevantes. Estos hallazgos difieren de los reportados

en investigaciones neuronales corticales de ratones C57BL/6J sometidos a modelos de isquemia por oclusión de la arteria cerebral media, así como en estudios *in vitro de* cultivos de neuronas corticales expuestas a privación de O_2 y glucosa, donde se registró un incremento de la inducción génica de NLRP3 mediante RT-PCR/qPCR, y una mayor expresión proteica confirmada por Western blot (Fann et al., 2013).

Además, análisis en muestras *post mortem* de pacientes con accidente cerebrovascular, empleando inmunohistoquímica, también revelaron una mayor inducción génica de este inflamasoma (Fann et al., 2013). En conjunto, la evidencia respalda a NLRP3 como un mediador central de la neuroinflamación inducida por hipoxia.

Por otro lado, estos resultados podrían indicar que en condiciones naturales e *in vivo,* las áreas corticales que comúnmente son consideradas más sensibles al déficit de O_2 (Gallagher & Hackett, 2004; Weil, 2004), podrían contar con mecanismos fisiológicos compensatorios más eficientes ante la hipoxia, evitando una induccion génica exagerada por parte de este inflamasoma y mitigando un daño tisular subsecuente.

El incremento sostenido de la inducción génica de NLRP3 en la mayoría de las regiones cerebrales evaluadas en este estudio, refuerzan la hipótesis de que la lesión vasogénica y la disminución del aporte de O_2 actúan como desencadenantes de la activación de inflamasomas. Este hallazgo es coherente con estudios en muestras humanas de aneurismas cerebrales, donde los niveles de NLRP3, evaluados mediante inmunohistoquímica, también se encontraban elevados, sugiriendo nuevamente el papel de este mediador en la fisiopatología de enfermedades vasculares del SNC (Zhang et al., 2015).

La activación de NLRP3 podría generar repercusiones vasogénicas de magnitudes comparables, tanto en modelos de isquemia por lesión vascular como en condiciones naturales de hipoxia ambiental de gran altitud, además de la modulacion y asociación de este mediador con la IL-6 (Taylor & Sansing, 2013).

El incremento significativo de la inducción génica de IL-6 a la exposicion a la hipoxia ambiental de gran altitud reportado en nuestro estudio, contrastan con los hallazgos obtenidos en investigaciones en modelos murinos de hemorragia intracerebral en roedores y áreas afectadas por la hemorragia; en ambos, se encontraron niveles disminuidos de IL-6 cuantificados por el Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas (ELISA) (Zhao et al., 2017), esto nos indica la variabilidad en la respuesta de IL-6 de cada región cerebral ante el origen diferencial del agente estresante y su relación con la respuesta neuroprotectiva de la permeabilidad vascular y la angiogénesis a en tejidos nerviosos.

Sin embargo, en otros estudios en corteza y tronco encefálico de ratas expuestas a condiciones simuladas de hipoxia hipobárica (niveles de 7 620 m.s.n.m.), también se reportaron niveles aumentados de IL-6 y ROS cuantificados por ELISA dentro las primeras 48 horas, ademas de cambios en permeabilidad y función endotelial de la BHE (Himadri et al., 2010). Estos resutlados evidencian que la exposición a la hipoxia ambiental de gran altitud y extrema altitud, repercuten en la neuroinflamación y el estrés oxidativo ocasionando una mayor sensibilidad de la inducción de los niveles de IL-6. Además de ello, el estado de hipoxia genera estaría asociado a la disminución de los efectos protectivos antioxidantes endogénos naturales (Peltola et al., 2000).

En estudios de cerebros de ratas adultas sometidas a lesión mecánica, se han reportado niveles elevados de IL-6 por técnicas de inmunoensayo (Woodroofe et al., 1991), concordantes a nuestros resultados en la tendencia del incremento significativo de la inducción génica de IL-6 al daño cerebral, reafirmando la hipótesis de la sensibilidad de los tejidos nerviosos a la concentración de O_2 y su influencia sobre los mecanismos proinflamatorios.

Investigaciones en cultivos corticales primarios de ratón han demostrado que la formación de un inflamasoma NLRP3 funcional y la inducción génica de IL-1β se restringen a la microglía, mientras que no se ha confirmado si los astrocitos participan directamente en su secreción o en la inducción completa de sus componentes (Gustin et al., 2015). Esta información es relevante para caracterizar subpoblaciones celulares a nivel de cerebro, particularmente en la corteza frontal. Estos resultados contrastan con

nuestros resultados ya que no se evidenciaron cambios signficativos en la inducción génica de NLRP3 a nivel de la corteza cerebral, pero sí se observan variaciones en la inducción de IL-1β. Estos hallazgos, muestran que la inducción génica de NLRP3 y de IL-1β presentan una tendencia mas o menos directa, encontrando nosotros, un incremento temprano de la inducción génica de IL-1β desde el día 1 en todas las áreas cerebrales, aunque tardía pero más notable en la corteza cerebral entre los días 7 y 14.

En condiciones fisiológicas, la IL-1β se expresa a niveles bajos en el cerebro "sano", donde participa en la regulación de diversas funciones normales. No obstante, en modelos de isquemia cerebral se ha descrito una inducción génica marcadamente incrementada de IL-1β, principalmente en microglía activada, la cual se asocia con procesos de excitotoxicidad mediada por glutamato y un incremento del daño neuronal (Gao et al., 2017). En línea con ello, nuestros resultados evidencian un incremento en la inducción génica de IL-1β en la corteza frontal, coherente con estudios previos (Gao et al., 2017) y con lo reportado en neuronas corticales expuestas a privación de O_2 (Fann et al., 2013). Por el contrario, nuestros hallazgos difieren de lo observado en modelos murinos de hemorragia intracerebral, donde los niveles de IL-1β cuantificados mediante ELISA fueron menores (Zhao et al., 2017). Este contraste sugiere variaciones no solo en la regulación regional de este mediador proinflamatorio, sino también en la composición y respuesta diferencial de las poblaciones neuronales y gliales implicadas.

Los resultados de la inducción génica de IL-1β complementan estudios en ratones deficientes en NLRP3 inducidos a modelos de isquemia cerebral por oclusión de la arteria cerebral media, en la cual se reportaron deficiencias en la inducción génica de NLRP3 y de IL-1β, medidas por RT-PCR, reportando también reducción del daño neurovascular y una atenuación de la respuesta inflamatoria. Estos hallazgos refuerzan la asociación entre la inducción génica de NLRP3 e IL-1β en la patogénesis del *ictus* isquémico y que su inhibición podría ser una estrategia terapéutica prometedora (Yang et al., 2014).

El HIF-1α es un factor de transcripción altamente sensible a los niveles de O_2 y actúa como mediador clave de la respuesta metabólica adaptativa ante hipoxia (Dong et al., 2019). En nuestro estudio, la inducción de HIF-1α se incrementó significativa y

tempranamente en el cuerpo estriado, la corteza y el hipotálamo ante la exposición a la hipoxia, mientras que en el hipocampo no se observaron cambios significativos en todos los días evaluados. Esto contrasta con estudios en roedores sometidos a hipoxia hipobárica simulada (equivalente a 6 100 m s. n. m.), donde se reportaron lesiones en las neuronas piramidales del hipocampo y una susceptibilidad temprana a la disminución de O_2 a los días 3, 7 y 14, sugiriendo que la hipoxia hipobárica podría inducir plasticidad dendrítica en estas neuronas, lo que estaría vinculado a mejoras en la memoria espacial tras 21 días de exposición como parte de los mecanismos de aclimatación (Maiti et al., 2008).

Estos hallazgos apoyan la idea de que el hipocampo posee mecanismos reguladores sostenidos frente a la hipoxia prolongada, lo que podría contradecir el concepto general de alta sensibilidad aguda a la mediada por HIF-1α a nivel cerebral (Dong et al., 2019). Alternativamente, los resultados podrían indicar la existencia de ajustes fisiológicos más eficientes en esta región, posiblemente asociados a una menor dependencia de O_2 o a una regulación diferencial de HIF-1α según el tipo celular presente a ese nivel.

Se ha sugerido que el hipocampo es más susceptible al déficit de O_2 en comparación con la corteza frontal y el cuerpo estriado, lo que indica que la hipoxia afecta de manera diferencial el estado antioxidante en estas regiones cerebrales (Maiti et al., 2006). Esta variabilidad en la susceptibilidad también podría explicar las diferencias observadas en la inducción génica del inflamasoma frente a la hipoxia, ya que las características propias de cada región, influirían en la modulación de la respuesta inflamatoria, la funcionalidad neuronal y la neurogénesis (Altman & Das,1965).

En nuestros hallazgos, el incremento de la expresión génica de IL-1β en la corteza frontal, sin cambios significativos en la expresión de NLRP3, podría sugerir una regulación diferencial de la respuesta inflamatoria inducida por la hipoxia. Esta respuesta podría estar relacionada con mecanismos reguladores que no dependan necesariamente de un incremento paralelo en la inducción génica de NLRP3. Al respecto, las vías de activación no canónica de los inflamasomas pueden favorecer la inducción de IL-1β sin depender exclusivamente de la vía canónica (Guo et al., 2015). Asimismo, se ha reportado que, en

muchos tipos celulares, la maduración y secreción de IL-1β pueden ocurrir sin requerir un segundo estímulo, dependiendo del entorno celular y de la vía de señalización involucrada (Kelley et al., 2019).

Diversas investigaciones han evidenciado una asociación entre HIF-1α, NLRP3, IL-1β, IL-18 y caspasa-1, así como con los procesos de muerte celular por piroptosis y apoptosis en el sistema nervioso (Jiang et al., 2020). Asimismo, HIF-1α podría participar en la regulación de la activación del inflamasoma NLRP3 y de la producción de IL-1β mediante la vía de señalización NF-κB, que interviene en la expresión de genes proinflamatorios (Huang et al., 2019). Estos mecanismos podrían contribuir a explicar el incremento concomitante de algunos marcadores inflamatorios observado en el cuerpo estriado y el hipotálamo de nuestro estudio; sin embargo, esta interpretación requiere considerar que los cambios simultáneos en la expresión génica no demuestran por sí mismos una relación causal directa.

Los resultados muestran que la exposición de ratas a la hipoxia ambiental de gran altitud genera cambios significativos en la mayoría de regiones cerebrales al día 7, salvo en la corteza (para NLRP3) y en el hipocampo (para HIF-1α), donde no se observaron variaciones significativas en ninguno de los días evaluados. Este patrón guarda cierta concordancia con estudios en roedores expuestos a hipoxia hipobárica simulada (equivalente a 6100 m s. n. m.), en los cuales se describieron lesiones en neuronas piramidales del hipocampo y una susceptibilidad temprana a la reducción del O_2 en los días 3, 7 y 14 (Maiti et al., 2008).

En conjunto, nuestros resultados indican que la hipoxia ambiental de gran altitud no solo modula de manera distinta la inducción génica de los componentes evaluados, sino que también pone de manifiesto la sensibilidad particular de cada región cerebral ante la disminución de O_2.

CONCLUSIONES

1. La exposición de ratas a la hipoxia ambiental de gran altitud, así como el tiempo de exposición, incrementan la inducción génica de NLRP3 en el cuerpo estriado, hipocampo e hipotálamo, se observaron respuestas más tempranas en las dos últimas regiones, mientras que la corteza frontal mostró menor sensibilidad a la disminución de O_2.

2. La exposición de ratas a la hipoxia ambiental de gran altitud, así como el tiempo de exposición, incrementan la inducción génica de IL-6 en todas las regiones evaluadas, se observaron respuestas más sensibles, tempranas y sostenidas a nivel del hipocampo e hipotálamo.

3. La exposición de ratas a la hipoxia ambiental de gran altitud, así como el tiempo de exposición, incrementan la inducción génica de IL-1β en todas las áreas evaluadas, se observaron respuestas más sensibles y tempranas en el cuerpo estriado e hipocampo y más tardías en el hipotálamo.

4. La exposición de ratas a la hipoxia ambiental de gran altitud, así como el tiempo de exposición, incrementan la inducción génica de HIF-1α, de forma temprana el cuerpo estriado y de forma tardía en el hipotálamo, se observó una menor sensibilidad a la disminución O_2 en el hipocampo y corteza frontal para la inducción de este gen.

5. La exposición de ratas a la hipoxia ambiental de gran altitud, así como el tiempo de exposición, incrementan la inducción génica del complejo inflamasoma (NLRP3, IL-6, IL-1β y HIF-1α), con sensibilidad diferencial según las áreas cerebrales, principalmente a nivel del cuerpo estriado e hipotálamo.

RECOMENDACIONES

Aún se deben ampliar las investigaciones hacia otras regiones cerebrales clave en la señalización y regulación de las respuestas fisiológicas frente a la hipoxia, incluyendo el tallo encefálico y, particularmente, el bulbo raquídeo. Esto permitiría profundizar la comprensión de los mecanismos moleculares involucrados en los procesos de neuroinflamacion cerebral a la hipoxia ambiental de gran altitud, todo ello en el marco del análisis de los mecanismos fisiopatológicos del mal de altura, condición propia de las zonas andinas de nuestro país.

Las investigaciones futuras deberían centrarse en explorar estrategias neuroprotectoras, incluyendo intervenciones farmacológicas y nutracéuticas dirigidas a mitigar la neuroinflamación y los procesos concomitantes a esta, tales como el estrés oxidativo, la apoptosis, entre otros. Además de ello, se debe enfocar los estudios en la caracterización intrínseca (tanto fisiológicas como morfológicas) de las diferentes regiones cerebrales y sus mecanismos o ajustes en los eventos de la alteración de su homeostasis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abdulkhaleq, L. A., Assi, M. A., Abdullah, R., Zamri-Saad, M., Taufiq-Yap, Y. H., & Hezmee, M. N. M. (2018). The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. *Veterinary World, 11*(5), 627-635.
2. Agostini, L., Martinon, F., Burns, K., McDermott, M. F., Hawkins, P. N., & Tschopp, J. (2004). NALP3 forms an IL-1β-processing inflammasome with increased activity in Muckle-Wells autoinflammatory disorder. *Immunity, 20*(3), 319–325.
3. Ainslie, P. N., & Poulin, M. J. (2004). Ventilatory, cerebrovascular, and cardiovascular interactions in acute hypoxia: Regulation by carbon dioxide. *Journal of Applied Physiology, 97*(1), 149–159.
4. Alessio, H. M. (1993). Exercise-induced oxidative stress. *Medicine & Science in Sports & Exercise, 25*(2), 218–224.
5. Allemann, Y., Rotter, M., Hutter, D., Lipp, E., Sartori, C., Scherrer, U., & Seiler, C. (2004). Impact of acute hypoxic pulmonary hypertension on LV diastolic function in healthy mountaineers at high altitude. *American Journal of Physiology–Heart and Circulatory Physiology, 286*(3), H856–H862.
6. Altman, J., & Das, G. D. (1965). Postnatal hippocampal neurogenesis in rats: Autoradiographic and histological evidence. *Journal of Comparative Neurology, 124*, 319–335.
7. Amodio, G., Moltedo, O., Faraonio, R., & Remondelli, P. (2018). Targeting the endoplasmic reticulum unfolded protein response to counteract the oxidative stress-induced endothelial dysfunction. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2018*, 4946289.
8. Arias-Stella, J., & Recavarren, S. (1962). Right ventricular hypertrophy in native children living at high altitude. *American Journal of Pathology, 41*(1), 55–64.
9. Bailey, D. M., & Davies, B. (1997). Physiological implications of altitude training for endurance performance at sea level: A review. *British Journal of Sports Medicine, 31*(3), 183–190.
10. Bailey, D. M., Davies, B., Young, I. S., Hullin, D. A., & Seddon, P. S. (2001). A potential role for free radical-mediated skeletal muscle soreness in the

pathophysiology of acute mountain sickness. *Aviation, Space, and Environmental Medicine, 72*(6), 513-521.

11. Barrett, K. E., Barman, S. M., Boitano, S., & Brooks, H. L. (2009). *Ganong's review of medical physiology* (23rd ed., pp. 619–620). Tata-McGraw-Hill.
12. Barrios-Arpi, L., Arias, Y., Lopez-Torres, B., Ramos-Gonzalez, M., Ticli, G., Prosperi, E., & Rodríguez, J. L. (2022). In vitro neurotoxicity of flumethrin pyrethroid on SH-SY5Y cells. *Toxics, 10*(3), 131.
13. Bartsch, P., & Bailey, D. M. (2014). Acute mountain sickness and high altitude cerebral oedema. In E. R. Swenson & P. Bartsch (Eds.), *High altitude: Human adaptation to hypoxia* (pp. 379–403). Springer.
14. Bärtsch, P., Mairbäurl, H., Maggiorini, M., & Swenson, E. R. (2005). Physiological aspects of high-altitude pulmonary edema. *Journal of Applied Physiology, 98*(3), 1101–1110.
15. Bauernfeind, F. G., Horvath, G., Stutz, A., Alnemri, E. S., MacDonald, K., Speert, D., Fernandes-Alnemri, T., Wu, J., Monks, B. G., Fitzgerald, K. A., Hornung, V., & Latz, E. (2009). Cutting edge: NF-κB activating pattern recognition and cytokine receptors license NLRP3 inflammasome activation by regulating NLRP3 expression. *Journal of Immunology, 183*(2), 787–791.
16. Baumgartner, R. W., Bärtsch, P., Maggiorini, M., Waber, U., & Oelz, O. (1994). Enhanced cerebral blood flow in acute mountain sickness. *Aviation, Space, and Environmental Medicine, 65*(8), 726–729.
17. Beall, C. M. (2003). High-altitude adaptations. *The Lancet, 362*, S14-S15.
18. Bouchard, C., Dionne, F. T., Simoneau, J. A., & Boulay, M. R. (1992). Genetics of aerobic and anaerobic performances. *Exercise and Sport Sciences Reviews, 20*, 27–58.
19. Braak, H., & Del Tredici, K. (2004). Alzheimer's disease: Intraneuronal alterations precede insoluble amyloid-β formation. *Neurobiology of Aging, 25*(6), 713–743.
20. Brieger, K., Schiavone, S., Miller, F. J. Jr., & Krause, K. H. (2012, August 17). Reactive oxygen species: From health to disease. *Swiss Medical Weekly, 142*, w13659.
21. Broz, P., & Dixit, V. M. (2016). Inflammasomes: Mechanism of assembly, regulation and signalling. *Nature Reviews Immunology, 16*(7), 407-420.

22. Broz, P., & Monack, D. (2013). Noncanonical inflammasomes: caspase-11 activation and effector mechanisms. *PLoS Pathogens, 9*(2), 1–9.
23. Broz, P., von Moltke, J., Jones, J. W., Vance, R. E., & Monack, D. M. (2010). Differential requirement for caspase-1 autoproteolysis in pathogen-induced cell death and cytokine processing. *Cell Host & Microbe, 8*(6), 471–483.
24. Brydges, S. D., Mueller, J. L., McGeough, M. D., Pena, C. A., Misaghi, A., Gandhi, C., Putnam, C. D., Boyle, D. L., Firestein, G. S., Horner, A. A., Soroosh, P., Watford, W. T., O'Shea, J. J., Kastner, D. L., & Hoffman, H. M. (2009). Inflammasome-mediated disease animal models reveal roles for innate but not adaptive immunity. *Immunity, 30*(6), 875–887.
25. Burtscher, M., Mairer, K., Wille, M., & Broessner, G. (2011). Risk factors for high-altitude headache in mountaineers. *Cephalalgia, 31*(6), 706–711.
26. Caravedo, M. A., Mozo, K., Morales, M. L., Smiley, H., Stuart, J., Tilley, D. H., & Cabada, M. M. (2022). Risk factors for acute mountain sickness in travellers to Cusco, Peru: Coca leaves, obesity, and sex. *Journal of Travel Medicine, 29*(5), taab102.
27. Carod-Artal, F. J. (2014). Cefalea de elevada altitud y mal de altura. *Neurología, 29*(9), 533–540.
28. Cassel, S. L., Eisenbarth, S. C., Iyer, S. S., Sadler, J. J., Colegio, O. R., Tephly, L. A., Carter, A. B., Rothman, P. B., Flavell, R. A., & Sutterwala, F. S. (2008). The NALP3 inflammasome is essential for the development of silicosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 105*(26), 9035–9040.
29. Castro-Gomez, S., & Heneka, M. T. (2024). Innate immune activation in neurodegenerative diseases. *Immunity, 57*(4), 790-814.
30. Chan, P. H., Schmidley, J. W., Fishman, R. A., & Longar, S. M. (1984). Brain injury, edema, and vascular permeability changes induced by oxygen-derived free radicals. *Neurology, 34*(3), 315-320.
31. Chao, W. H., Askew, E. W., Roberts, D. E., Wood, S. M., & Perkins, J. B. (1999). Oxidative stress in humans during work at moderate altitude. *Journal of Nutrition, 129*(11), 2009–2012.
32. Clarke, C. (2006). Acute mountain sickness: Medical problems associated with acute and subacute exposure to hypobaric hypoxia. *Postgraduate Medical Journal, 82*(973), 748–753.

33. Clarkson, P. M. (1995). Antioxidants and physical performance. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 35*(1–2), 131–141.
34. Clausen, F., Hånell, A., Björk, M., Hillered, L., Mir, A. K., Gram, H., & Marklund, N. (2009). Neutralization of interleukin-1β modifies inflammation and improves outcome after traumatic brain injury. *European Journal of Neuroscience, 30*(3), 385–396).
35. Dinarello, C. A. (2009). Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annual Review of Immunology, 27*, 519–550.
36. Dong, P., Li, Q., & Han, H. (2022). HIF-1α in cerebral ischemia. *Molecular Medicine Reports, 25*(2), 41.
37. Dostert, C., Guarda, G., Romero, J. F., Menu, P., Gross, O., Tardivel, A., Suva, M. L., Stehle, J.-C., Kopf, M., Stamenkovic, I., Corradin, G., & Tschopp, J. (2009). Malarial hemozoin is a NALP3 inflammasome activating danger signal. *PLoS ONE, 4*(8), e6510.
38. Erta, M., Quintana, A., & Hidalgo, J. (2012). Interleukin-6, a major cytokine in the CNS. *International Journal of Biological Sciences, 8*(9), 1254–1266.
39. Fann, D. Y., Lee, S. Y., Manzanero, S., Tang, S. C., Gelderblom, M., Chunduri, P., Bernreuther, C., Glatzel, M., Cheng, Y. L., Thundyil, J., Widiapradja, A., Lok, K. Z., Foo, S. L., Wang, Y. C., Li, Y. I., Drummond, G. R., Basta, M., Magnus, T., Jo, D. G., Mattson, M. P., Sobey, C. G., & Arumugam, T. V. (2013). Intravenous immunoglobulin suppresses NLRP1 and NLRP3 inflammasome-mediated neuronal death in ischemic stroke. *Cell Death & Disease, 4*(9), e790.
40. Feng, Y., Liao, S., Wei, C., Jia, D., Wood, K., Liu, Q., … Jin, W.-N. (2017). Infiltration and persistence of lymphocytes during late-stage cerebral ischemia. *Journal of Neuroinflammation, 14*(1), 248.
41. Gallagher, S. A., & Hackett, P. H. (2004). High-altitude illness. *Emergency Medicine Clinics of North America, 22*(2), 329–355.
42. Gao, L., Dong, Q., Song, Z., Shen, F., & Shi, J. (2017). NLRP3 inflammasome: A promising target in ischemic stroke. *Inflammation Research, 66*(1), 17–24.
43. Garrido, E., Botella de Maglia, J., & Castillo, O. (2020). Acute, subacute and chronic mountain sickness. *Revista Clínica Española*. Advance online publication
44. Gatterer, H., Villafuerte, F. C., Ulrich, S., Bhandari, S. S., Keyes, L. E., & Burtscher, M. (2024). Altitude illnesses. *Nature Reviews Disease Primers, 10*(1), 43.

45. Getu, A. (2022). Ethiopian native highlander's adaptation to chronic high-altitude hypoxia. *Biomedical Research International, 2022*, 5749382.
46. Glass, C. K., Saijo, K., Winner, B., Marchetto, M. C., & Gage, F. H. (2010). Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. *Cell, 140*(6), 918–934.
47. Goadsby, P. J. (2009). Pathophysiology of migraine. *Neurologic Clinics, 27*, 335–360.
48. Goldbach-Mansky, R., Dailey, N. J., Canna, S. W., Gelabert, A., Jones, J., Rubin, B. I., … Kastner, D. L. (2006). Neonatal-onset multisystem inflammatory disease responsive to interleukin-1β inhibition. *The New England Journal of Medicine, 355*(6), 581–592.
49. 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 oxidative stress and inflammatory response via the PI3K/AKT-Nrf2 pathway. *Molecular Immunology, 95*, 91-98.
50. Groves, B. M., Reeves, J. T., Sutton, J. R., Wagner, P. D., Cymerman, A., Malconian, M. K., Rock, P. B., Young, P. M., & Houston, C. S. (1987). Operation Everest II: Elevated high-altitude pulmonary resistance unresponsive to oxygen. *Journal of Applied Physiology, 63*(2), 521–530.
51. Grünig, E., Mereles, D., Hildebrandt, W., Swenson, E. R., Kübler, W., Kuecherer, H., & Bärtsch, P. (2000). Stress Doppler echocardiography for identification of susceptibility to high altitude pulmonary edema. *Journal of the American College of Cardiology, 35*(4), 980–987.
52. Guo, H., Callaway, J. B., & Ting, J. P. (2015). Inflammasomes: Mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nature Medicine, 21*(7), 677-687.
53. Gustin, A., Kirchmeyer, M., Koncina, E., Felten, P., Losciuto, S., Heurtaux, T., Tardivel, A., Heuschling, P., & Dostert, C. (2015). NLRP3 inflammasome is expressed and functional in mouse brain microglia but not in astrocytes. *PLoS ONE, 10*(6), e0130624.
54. Hackett, P. H. (1999). High altitude cerebral edema and acute mountain sickness: A pathophysiology update. *Advances in Experimental Medicine and Biology, 474*, 23–45.
55. Hackett, P. H., & Roach, R. C. (2001). High-altitude illness. *The New England Journal of Medicine, 345*(2), 107–114.

56. Hackett, P. H., Yarnell, P. R., Hill, R., Reynard, K., Heit, J., & McCormick, J. (1998). High-altitude cerebral edema evaluated with magnetic resonance imaging: Clinical correlation and pathophysiology. *JAMA, 280*(22), 1920–1925.
57. Hafner-Bratkovic, I., Bencina, M., Fitzgerald, K. A., Golenbock, D., & Jerala, R. (2012). NLRP3 inflammasome activation in macrophage cell lines by prion protein fibrils as the source of IL-1β and neuronal toxicity. *Cellular and Molecular Life Sciences, 69*(24), 4215–4228.
58. Halff, E., Diebolder, C., Versteeg, M., Schouten, A., Brondijk, H., & Huizinga, E. (2012). Formation and structure of a NAIP5-NLRC4 inflammasome induced by direct interactions with conserved N- and C-terminal regions of flagellin. *Journal of Biological Chemistry, 287*(46), 38460-38472.
59. Halle, A., Hornung, V., Petzold, G. C., Stewart, C. R., Monks, B. G., Reinheckel, T., Fitzgerald, K. A., Latz, E., & Golenbock, D. T. (2008). The NALP3 inflammasome is involved in the innate immune response to amyloid-beta. *Nature Immunology, 9*(8), 857–865.
60. Heneka, M. T., Kummer, M. P., Stutz, A., Delekate, A., Schwartz, S., Vieira-Saecker, A., Griep, A., Axt, D., Remus, A., Tzeng, T.-C., Gelpi, E., Halle, A., Korte, M., Latz, E., & Golenbock, D. T. (2013). NLRP3 is activated in Alzheimer's disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice. *Nature, 493*(7434), 674–67
61. Himadri, P., Kumari, S. S., Chitharanjan, M., & Dhananjay, S. (2010). Role of oxidative stress and inflammation in hypoxia-induced cerebral edema: A molecular approach. *High Altitude Medicine & Biology, 11*(3), 231-244.
62. Hornung, V., Bauernfeind, F., Halle, A., Samstad, E. O., Kono, H., Rock, K. L., Fitzgerald, K. A., & Latz, E. (2008). Silica crystals and aluminum salts activate the NALP3 inflammasome through phagosomal destabilization. *Nature Immunology, 9*(8), 847–856.
63. Horscroft, J. A., Kotwica, A. O., Laner, V., West, J. A., Hennis, P. J., Levett, D. Z. H., Howard, D. J., Fernandez, B. O., Burgess, S. L., Ament, Z., Gilbert-Kawai, E. T., Vercueil, A., Landis, B. D., Mitchell, K., Mythen, M. G., Branco, C., Johnson, R. S., Feelisch, M., Montgomery, H. E., Griffin, J. L., Grocott, M. P. W., Gnaiger, E., Martin, D. S., & Murray, A. J. (2017). Metabolic basis to Sherpa altitude adaptation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 114*(24), 6382–6387.

64. Huang, J.-J., Xia, J., Huang, L.-L., & Li, Y.-C. (2019). HIF-1α promotes NLRP3 inflammasome activation in bleomycin-induced acute lung injury. *Molecular Medicine Reports, 20*(4), 3424–3432.
65. Hurtado, A. (1932). Respiratory adaptation in Indian natives of Peruvian Andes. Studies at high altitude. *American Journal of Physical Anthropology, 17*, 137–165.
66. Imray, C., Wright, A., Subudhi, A., & Roach, R. (2010). Acute mountain sickness: Pathophysiology, prevention, and treatment. *Progress in Cardiovascular Diseases, 52*(5), 467–484.
67. Inoue, M., & Shinohara, M. L. (2013). NLRP3 inflammasome and MS/EAE. *Autoimmune Diseases, 2013*, 859145.
68. Ising, C., Venegas, C., Zhang, S., Scheiblich, H., Schmidt, S. V., Vieira-Saecker, A., Schwartz, S., Albasset, S., McManus, R. M., Tejera, D., Griep, A., Santarelli, F., Brosseron, F., Opitz, S., Stunden, J., Merten, M., Kayed, R., Golenbock, D. T., Blum, D., Latz, E., Buée, L., & Heneka, M. T. (2019). NLRP3 inflammasome activation drives tau pathology. *Nature, 575*(7784), 669–673.
69. Issurin, V. (2007). Altitude training: An up-to-date approach and implementation in practice. *Sporto Mokslas, 1*(47), 12–19.
70. Jenkins, R. R., & Goldfarb, A. (1993). Introduction: Oxidant stress, aging, and exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise, 25*(2), 210–212. Erratum in *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 25(5), 653.
71. Jensen, J. D., & Vincent, A. L. (2023). High altitude cerebral edema. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
72. Jiang, Q., Geng, X., Warren, J., Eugene Paul Cosky, E., Kaura, S., Stone, C., Li, F., & Ding, Y. (2020). Hypoxia Inducible Factor-1α (HIF-1α) Mediates NLRP3 Inflammasome-Dependent-Pyroptotic and Apoptotic Cell Death Following Ischemic Stroke. Neuroscience, 448, 126–139.
73. Jin, C., & Flavell, R. (2010). Molecular mechanism of NLRP3 inflammasome activation. *Journal of Clinical Immunology, 30*, 628–631.
74. Jin, X., Wang, R.-H., Wang, H., Long, C.-L., & Wang, H. (2015). Brain protection against ischemic stroke using choline. *Acta Pharmacologica Sinica, 36*(11), 1416–1425.

75. Jing, L., Shao, J., Zhao, T., He, L., & Ma, H. (2021). Protective effect of 5,6,7,8-tetrahydroxyflavone against acute hypobaric hypoxia-induced oxidative stress in mice. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 34*(2), 513-519.
76. Julian, C. G., Vargas, E., Browne, V. A., Wilson, M. J., Bigham, A. W., Rodriguez, C., McCord, J. M., & Moore, L. G. (2012). Potential role for elevated maternal enzymatic antioxidant status in Andean protection against altitude-associated SGA. *Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, 25*, 1233-1240.
77. Juruj, C., Lelogeais, V., Pierini, R., Perret, M., Py, B. F., Jamilloux, Y., Broz, P., Ader, F., Faure, M., & Henry, T. (2013). Caspase-1 activity affects AIM2 speck formation/stability through a negative feedback loop. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 3*(14), 1–11.
78. Kallenberg, K., Bailey, D. M., Christ, S., Mohr, A., Roukens, R., Menold, E., Steiner, T., Bärtsch, P., & Knauth, M. (2007). Magnetic resonance imaging evidence of cytotoxic cerebral edema in acute mountain sickness. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism, 27*(5), 1064–1071.
79. Kanneganti, T. D., Lamkanfi, M., Kim, Y.-G., Chen, G., Park, J.-H., Franchi, L., Vandenabeele, P., & Núñez, G. (2007). Pannexin-1-mediated recognition of bacterial molecules activates the cryopyrin inflammasome independent of Toll-like receptor signaling. *Immunity, 26*(4), 433–443.
80. Kaushal, V., Dye, R., Pakavathkumar, P., Foveau, B., Flores, J., Hyman, B., Ghetti, B., Koller, B. H., & LeBlanc, A. C. (2015). Neuronal NLRP1 inflammasome activation of Caspase-1 coordinately regulates inflammatory interleukin-1-beta production and axonal degeneration-associated Caspase-6 activation. *Cell Death & Differentiation, 22*(10), 1676–1686.
81. Kawamoto, E. M., Vivar, C., & Camandola, S. (2012). Physiology and pathology of calcium signaling in the brain. *Frontiers in Pharmacology, 3*, Article 61.
82. Kayagaki, N., Warming, S., Lamkanfi, M., Vande Walle, L., Louie, S., Dong, J., Newton, K., Qu, Y., Liu, J., Heldens, S., Zhang, J., Lee, W.-P., Roose-Girma, M., & Dixit, V. M. (2011). Non-canonical inflammasome activation targets caspase-11. *Nature, 479*(7371), 117–121.
83. Keller, M., Ruegg, A., Werner, S., & Beer, H. (2008). Active caspase-1 is a regulator of unconventional protein secretion. *Cell, 132*, 818–831.

84. 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.
85. Koch, U., & Radtke, F. (2011). Mechanisms of T cell development and transformation. *Annual Review of Cell and Developmental Biology, 27*, 539-562.
86. Krasney, J. A. (1997). Cerebral hemodynamics and high altitude cerebral edema. In C. S. Houston & G. Coates (Eds.), *Hypoxia: Women at altitude* (pp. 254–267). Queen City Publishers.
87. Krasney, J. A., Curran-Everett, D. C., & Iwamoto, J. (1990). High altitude cerebral edema: An animal model. In J. R. Sutton, G. Coates, & J. E. Remmers (Eds.), *Hypoxia: The adaptations* (pp. 200–205). B. C. Dekker.
88. Krasney, J. A., Jensen, J. B., & Lassen, N. A. (1990). Cerebral blood flow does not adapt to sustained hypoxia. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism, 10*, 759–764.
89. Kryger, M., McCullough, R. E., Collins, D., Scoggin, C. H., Weil, J. V., & Grover, R. F. (1978). Treatment of excessive polycythemia of high altitude with respiratory stimulant drugs. *American Review of Respiratory Disease, 117*(3), 455–464.
90. Lamkanfi, M., & Dixit, V. M. (2014). Mechanisms and functions of inflammasomes. *Cell, 157*(5), 1013-1022.
91. Lee, G. S., Subramanian, N., Kim, A.-I., Aksentijevich, I., Goldbach-Mansky, R., Sacks, D. B., Germain, R. N., Kastner, D. L., & Chae, J. J. (2012). The calcium-sensing receptor regulates the NLRP3 inflammasome through Ca^{2+} and cAMP. *Nature, 492*(7427), 123–127.
92. León-Velarde, F., Maggiorini, M., Reeves, J. T., Aldashev, A., Asmus, I., Bernardi, L., Ge, R. L., Hackett, P., Kobayashi, T., Moore, L. G., Penaloza, D., Richalet, J. P., Roach, R., Wu, T., Vargas, E., Zubieta-Castillo, G., & Zubieta-Calleja, G. (2005). Consensus statement on chronic and subacute high altitude diseases. *High Altitude Medicine & Biology, 6*(2), 147–157.
93. Lin, K. M., Hu, W., Troutman, T. D., Jennings, M., Brewer, T., Li, X., Nanda, S., Cohen, P., Thomas, J. A., & Pasare, C. (2014). IRAK-1 bypasses priming and directly links TLRs to rapid NLRP3 inflammasome activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 111*(2), 775–780.

94. Lira-Mejía, B., Calderon-Romero, R., Ordaya-Fierro, J., Medina, C., Rodríguez, J. L., Romero, A., Dávila, R., & Ramos-Gonzalez, M. (2025). Impact of Exposure Duration to High-Altitude Hypoxia on Oxidative Homeostasis in Rat Brain Regions. *International journal of molecular sciences*, 26(17), 8714.

95. Lüneburg, N., Siques, P., Brito, J., Arriaza, K., Peña, E., Klose, H., León-Velarde, F., & Böger, R. H. (2016). Long-term chronic intermittent hypobaric hypoxia in rats causes an imbalance in the asymmetric dimethylarginine/nitric oxide pathway and ROS activity: A possible synergistic mechanism for altitude pulmonary hypertension? *Pulmonary Medicine, 2016*, 6578578.

96. Ma, M. W., Wang, J., Dhandapani, K. M., & Brann, D. W. (2017). NADPH Oxidase 2 Regulates NLRP3 Inflammasome Activation in the Brain after Traumatic Brain Injury. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017, 6057609.

97. Ma, Q., Chen, S., Hu, Q., Feng, H., Zhang, J. H., & Tang, J. (2014). NLRP3 inflammasome contributes to inflammation after intracerebral hemorrhage. *Annals of neurology*, 75(2), 209–219.

98. Maggiorini, M. (2001). Mountaineering and altitude sickness. *Therapeutische Umschau, 58*(6), 387–393.

99. Maiti, P., Muthuraju, S., Ilavazhagan, G., & Singh, S. B. (2008). Hypobaric hypoxia induces dendritic plasticity in cortical and hippocampal pyramidal neurons in rat brain. *Behavioural Brain Research, 189*(2), 233-243.

100. Maiti, P., Singh, S. B., & Ilavazhagan, G. (2010). Nitric oxide system is involved in hypobaric hypoxia-induced oxidative stress in rat brain. *Acta Histochemica, 112*(3), 222-232.

101. Maiti, P., Singh, S. B., Sharma, A. K., Muthuraju, S., Banerjee, P. K., & Ilavazhagan, G. (2006). Hypobaric hypoxia induces oxidative stress in rat brain. *Neurochemistry International, 49*(8), 709-716.

102. Marciniak, S. J., & Ron, D. (2006). Endoplasmic reticulum stress signaling in disease. *Physiological Reviews, 86*(4), 1133–1149.

103. Martinon, F., Burns, K., & Tschopp, J. (2002). The inflammasome: A molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of pro-IL-beta. Molecular Cell, 10(2), 417-426.

104. Matsuyama, H., Shindo, A., Shimada, T., Yata, K., Wakita, H., Takahashi, R., & Tomimoto, H. (2020). *Chronic cerebral hypoperfusion activates AIM2 and NLRP3 inflammasome*. *Brain Research*, 1736, 146779.

105. Matsuzawa, Y., Kobayashi, T., Fujimoto, K., Shinozaki, S., & Yoshikawa, S. (1992). Cerebral edema in acute mountain sickness. In G. Ueda, J. T. Reeves, & M. Sekiguchi (Eds.), *High altitude medicine* (pp. 300–304). Shinshu University Press.

106. Meng, G., Zhang, F., Fuss, I., Kitani, A., & Strober, W. (2009). A mutation in the Nlrp3 gene causing inflammasome hyperactivation potentiates Th17 cell-dominant immune responses. *Immunity, 30*(6), 860–874.

107. Morganti-Kossmann, M. C., Hans, V. H., Lenzlinger, P. M., Dubs, R., Ludwig, E., Trentz, O., & Kossmann, T. (1999). TGF-β is elevated in the CSF of patients with severe traumatic brain injuries and parallels BBB function. *Journal of Neurotrauma, 16*(7), 617–628.

108. Mrakic-Sposta, S., Gussoni, M., Dellanoce, C., Marzorati, M., Montorsi, M., Rasica, L., Pratali, L., D'Angelo, G., Martinelli, M., Bastiani, L., Di Natale, L., & Vezzoli, A. (2021). Effects of acute and sub-acute hypobaric hypoxia on oxidative stress: A field study in the Alps. *European Journal of Applied Physiology, 121*(1), 297–306.

109. Murakami, T., Ockinger, J., Yu, J., Byles, V., McColl, A., Hofer, A. M., & Horng, T. (2012). Critical role for calcium mobilization in activation of the NLRP3 inflammasome. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 109*(28), 11282–11287.

110. Natah, S. S., Srinivasan, S., Pittman, Q., Zhao, Z., & Dunn, J. F. (2009). Effects of acute hypoxia and hyperthermia on the permeability of the blood–brain barrier in adult rats. *Journal of Applied Physiology (1985), 107*(4), 1348–1356.

111. Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2004). *Lehninger principles of biochemistry* (3rd ed., p. 542). Macmillan Worth Publishers.

112. Otis, S. M., Rossman, M. E., Schneider, P. A., Rush, M. P., & Ringelstein, E. B. (1989). Relationship of cerebral blood flow regulation to acute mountain sickness. *Journal of Ultrasound in Medicine, 8*(3), 143–148.

113. Paralikar, S. J., & Paralikar, J. H. (2010). High-altitude medicine. *Indian Journal of Occupational and Environmental Medicine, 14*(1), 6–12.

114. Peltola, J., Palmio, J., Korhonen, L., Suhonen, J., Miettinen, A., & Hurme, M. (2000). IL-6 and IL-1 receptor antagonist in CSF after seizures. *Epilepsy Research, 41*, 205–211.

115. Peña, E., El Alam, S., Siques, P., & Brito, J. (2022). Oxidative stress and diseases associated with high-altitude exposure. *Antioxidants, 11*(2), 267.

116. Peoples, J. N., Saraf, A., Ghazal, N., Pham, T. T., & Kwong, J. Q. (2019). Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in heart disease. *Experimental & Molecular Medicine, 51*, Article 1–13.

117. Poulin, M. J., & Robbins, P. A. (1998). Influence of cerebral blood flow on the ventilatory response to hypoxia in humans. *Experimental Physiology, 83*(1), 95–106.

118. Purushothaman, J., Suryakumar, G., Shukla, D., Malhotra, A. S., Kasiganesan, H., Kumar, R., Sawhney, R. C., & Chami, A. (2008). Modulatory effects of seabuckthorn (Hippophae rhamnoides L.) in hypobaric hypoxia-induced cerebral vascular injury. *Brain Research Bulletin, 77*(5), 246-252.

119. Pyne, D. B. (1994). Exercise-induced muscle damage and inflammation: A review. *Australian Journal of Science & Medicine in Sport, 26*(3–4), 49–58.

120. Ramírez Ramos, A., & Castillo Rosales, T. (2008). Reseña histórica de la gastroenterología y endoscopía del aparato digestivo en el Perú. *Acta Médica Peruana, 25*(2), 113–122.

121. Reeves, J. T., & Leon-Velarde, F. (2004). Chronic mountain sickness: Recent studies of the relationship between hemoglobin concentration and oxygen transport. *High Altitude Medicine & Biology, 5*(2), 147–155.

122. Richardson, A. G., & Schadt, E. E. (2014). The role of macromolecular damage in aging and age-related disease. *The Journals of Gerontology: Series A, Biological Sciences and Medical Sciences, 69*(Suppl. 1), S28–S32.

123. Roach, R. C., Bärtsch, P., Hackett, P. H., Oelz, O., & Sutton, J. R. (1993). The Lake Louise acute mountain sickness scoring system. In J. R. Sutton, C. S. Houston, & G. Coates (Eds.), *Hypoxia and molecular medicine* (pp. 272–274). Queen City Press.

124. Roach, R. C., Houston, C. S., Honigman, B., Nicholas, R. A., Yaron, M., Grissom, C. K., Alexander, J. K., & Hultgren, H. N. (1995). How well do older persons tolerate moderate altitude? *Western Journal of Medicine, 162*(1), 32–36.

125. Rodway, G. W., Hoffman, L. A., & Sanders, M. H. (2003). High-altitude-related disorders. Part I: Pathophysiology, differential diagnosis, and treatment. *Heart & Lung, 32*(6), 353–359.

126. Salazar, H., Swanson, J., Mozo, K., White, A. C., Jr., & Cabada, M. M. (2012). Acute mountain sickness impact among travelers to Cusco, Peru. *Journal of Travel Medicine, 19*(4), 220–225.

127. Sanchez del Rio, M., & Moskowitz, M. (1999). High altitude headache: Lessons from headaches at sea level. In R. C. Roach, P. D. Wagner, & P. H. Hackett (Eds.), *Hypoxia: Into the next millennium* (pp. 145–153). Kluwer Academic/Plenum.

128. Schmid, F., Barrett, M. J., Jenny, P., & Weber, B. (2019). Vascular density and distribution in neocortex. *NeuroImage, 197*, 792-805.

129. Schoene, R. B. (2008). Illnesses at high altitude. *Chest, 134*, 402–416.

130. Schoonman, G. G., Sándor, P. S., Nirkko, A. C., Lange, T., Jaermann, T., Dydak, U., Kremer, C., Ferrari, M. D., Boesiger, P., & Baumgartner, R. W. (2008). Hypoxia-induced acute mountain sickness is associated with intracellular cerebral edema: A 3 T magnetic resonance imaging study. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism, 28*(1), 198–206.

131. Schorn, C., Frey, B., Lauber, K., Janko, C., Strysio, M., Keppeler, H., Gaipl, U. S., Voll, R. E., Springer, E., Munoz, L. E., Schett, G., & Herrmann, M. (2011). Sodium overload and water influx activate the NALP3 inflammasome. *Journal of Biological Chemistry, 286*(1), 35–41.

132. Schroder, K., & Tschopp, J. (2010). The inflammasomes. *Cell, 140*(6), 821-832.

133. Schroder, K., Sagulenko, V., Zamoshnikova, A., Richards, A. A., Cridland, J. A., Irvine, K. M., Stacey, K. J., & Sweet, M. J. (2012). Acute lipopolysaccharide priming boosts inflammasome activation independently of inflammasome sensor induction. *Immunobiology, 217*(12), 1325–1339.

134. Serrano-Dueñas, M. (2005). High altitude headache: A prospective study of its clinical characteristics. *Cephalalgia, 25*(12), 1110–1116.

135. Shi, K., Tian, D.-C., Li, Z.-G., Ducruet, A. F., Lawton, M. T., & Shi, F.-D. (2019). Global brain inflammation in stroke. *Lancet Neurology, 18*(11), 1058–1066.

136. Shio, M. T., Eisenbarth, S. C., Savaria, M., Vinet, A.-F., Bellemare, M.-J., Harder, K. W., Sutterwala, F. S., Bohle, D. S., Descoteaux, A., Flavell, R. A., & Olivier, M. (2009). Malarial hemozoin activates the NLRP3 inflammasome through Lyn and Syk kinases. *PLoS Pathogens, 5*(8), e1000559.

137. Silber, E., Sonnenberg, P., Collier, D. J., Pollar, A. J., Murdoch, D. R., & Goadsby, P. J. (2003). Clinical features of headache at altitude: A prospective study. *Neurology, 60*(7), 1167–1171.

138. Silverman, W., De Rivero, J., Locovei, S., Qiu, F., Carsson, S., Scemes, E., Keane, R., & Dahl, G. (2009). The pannexin-1 channel activates the inflammasome in neurons and astrocytes. *Journal of Biological Chemistry, 284*(27), 18143–18151.

139. Simon-Schnass, I. (1996). Oxidative stress at high altitude and effects of vitamin E. En B. M. Marriott & S. J. Carlson (Eds.), *Nutritional Needs in Cold and in High Altitude Environments* (pp. 393–418).

140. Sinex, J. A., & Chapman, R. F. (2015). Hypoxic training methods for improving endurance exercise performance. *Journal of Sport and Health Science, 4*(4), 325–332.

141. Sofroniew, M. V., & Vinters, H. V. (2010). Astrocytes: Biology and pathology. *Acta Neuropathologica, 119*(1), 7–35.

142. Sollberger, G., Strittmatter, G. E., Kistowska, M., French, L. E., & Beer, H.-D. (2012). Caspase-4 is required for activation of inflammasomes. *Journal of Immunology, 188*(4), 1992–2000.

143. Soria, F. N., Pérez-Samartín, A., Martin, A., Gona, K. B., Llop, J., Szczupak, B., Chara, J. C., Matute, C., & Domercq, M. (2014). Extrasynaptic glutamate release through cystine/glutamate antiporter contributes to ischemic damage. *Journal of Clinical Investigation, 124*(8), 3645–3655.

144. Stack, J. H., Beaumont, K., Larsen, P. D., Straley, K. S., Henkel, G. W., Randle, J. C., & Hoffman, H. M. (2005). IL-converting enzyme/caspase-1 inhibitor VX-765 blocks the hypersensitive response to an inflammatory stimulus in monocytes from familial cold autoinflammatory syndrome patients. *Journal of Immunology, 175*(4), 2630–2634.

145. Sutterwala, F. S., Ogura, Y., Szczepanik, M., Lara-Tejero, M., Lichtenberger, G. S., Grant, E. P., Bertin, J., Coyle, A. J., Galán, J. E., Askenase, P. W., & Flavell, R. A. (2006). Critical role for NALP3/CIAS1/Cryopyrin in

innate and adaptive immunity through its regulation of caspase-1. *Immunity, 24*(3), 317–327.

146. Takeuchi, O., & Akira, S. (2010). Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell, 140*(6), 805-820.

147. Tang, X. G., Wen, J., Zhang, X. S., & Jiang, D. C. (2018). Association between decreased osteopontin and acute mountain sickness upon rapid ascent to 3500 m among young Chinese men. *Journal of Travel Medicine, 25*(1).

148. Taylor, R. A., & Sansing, L. H. (2013). Microglial responses after ischemic stroke and intracerebral hemorrhage. *Clinical and Developmental Immunology, 2013*, 746068.

149. Triantafilou, K. (2021). Enigmatic inflammasomes. *Immunology, 162*(3), 249–251.

150. Turner, R. E. F., Gatterer, H., Falla, M., & Lawley, J. S. (2021). High-altitude cerebral edema: Its own entity or end-stage acute mountain sickness? *Journal of Applied Physiology (1985), 131*(1), 313-325.

151. Vallières, L., & Rivest, S. (1997). Regulation of IL-6 and IL-1 receptors in rat brain after LPS and IL-1β. *Journal of Neurochemistry, 69*, 1668–1680.

152. Vanaja, S. K., Rathinam, V. A., & Fitzgerald, K. A. (2015). Mechanisms of inflammasome activation: Recent advances and novel insights. *Trends in Cell Biology, 25*(5), 308–315.

153. Verhoef, P. A., Kertesy, S. B., Lundberg, K., Kahlenberg, J. M., & Dubyak, G. R. (2005). Inhibitory effects of chloride on the activation of caspase-1, IL-1β secretion, and cytolysis by the P2X7 receptor. *Journal of Immunology, 175*(11), 7623–7634.

154. Viault, F. (1981). On the large increase in the number of red cells in the blood of the inhabitants of the high plateaus of South America. In J. B. West (Ed.), *High altitude physiology* (pp. 333–334). Hutchinson Ross.

155. Wang, L., Ren, W., Wu, Q., Liu, T., Wei, Y., Ding, J., Zhou, C., Xu, H., & Yang, S. (2022). NLRP3 Inflammasome Activation: A Therapeutic Target for Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury. *Frontiers in molecular neuroscience*, 15, 847440.

156. Ward, J. P. T. (2017). Physiological redox signalling and regulation of ion channels: Implications for pulmonary hypertension. *Experimental Physiology, 102*(9), 1078–1082.

157. Weil, J. V. (2004). Sleep at high altitude. *High Altitude Medicine & Biology, 5*(2), 180–189.

158. Wen, H., Miao, E. A., & Ting, J. P. (2013). Mechanisms of NOD-like receptor-associated inflammasome activation. *Immunity, 39*(3), 432-441.

159. Woodroofe, M. N., Sarna, G. S., Wadhwa, M., Hayes, G. M., Loughlin, A. J., & Tinker, A. (1991). IL-1 and IL-6 detection in rat brain after injury. *Journal of Neuroimmunology, 33*, 227–236.

160. Wu, H., Zhang, Z., Hu, X., Zhao, R., Song, Y., Ban, X., … Wang, J. (2010). Dynamic changes of inflammatory markers in brain after hemorrhagic stroke in humans: A postmortem study. *Brain Research, 1342*, 111–117.

161. Xu, X. Q., & Jing, Z. C. (2009). High-altitude pulmonary hypertension. *European Respiratory Review, 18*(111), 13–17.

162. Xu, Z., Kombe Kombe, A. J., Deng, S., Zhang, H., Wu, S., Ruan, J., Zhou, Y., & Jin, T. (2024). NLRP inflammasomes in health and disease. *Molecular Biomedicine, 5*(1), 14.

163. Yang, F., Wang, Z., Wei, X., Han, H., Meng, X., Zhang, Y., … Pang, Q. (2014). NLRP3 deficiency ameliorates neurovascular damage in experimental ischemic stroke. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism, 34*(4), 660–667.

164. Yang, J., Liu, Z., & Xiao, T. S. (2017). Post-translational regulation of inflammasomes. *Cellular & Molecular Immunology, 14*(1), 65–79.

165. Zauner, A., Daugherty, W. P., Bullock, M. R., & Warner, D. S. (2002). Brain oxygenation and energy metabolism: Part I. Biological function and pathophysiology. *Neurosurgery, 51*(2), 289-301.

166. Zhang, D., Yan, H., Hu, Y., Zhuang, Z., Yu, Z., & Hang, C. (2015). Increased expression of NLRP3 inflammasome in wall of ruptured and unruptured human cerebral aneurysms. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases, 24*(5), 972–979.

167. Zhao, X., Ting, S. M., Liu, C.-H., Sun, G., Kruzel, M., Roy-O'Reilly, M., & Aronowski, J. (2017). Neutrophil polarization by IL-27 as a therapeutic target for intracerebral hemorrhage. *Nature Communications, 8*(1), 602.

168. Zindel, J., & Kubes, P. (2020). DAMPs, PAMPs, and LAMPs in immunity and sterile inflammation. Annual Review of Pathology, 15, 493-518.