



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO-BIOLÓGICAS

“Efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre la fuerza de contracción muscular, el estrés oxidante y la expresión génica de RYR1, SERCA1 y NCX3 en el músculo esquelético de un modelo de ratón con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada”

TESIS

Que presenta:

Biól. Cielo Maritza Martínez Martínez

Para obtener el grado de

**Maestra en Ciencias en
Biología Experimental**

DIRECTORA DE TESIS: D.C. Rocío del Carmen Montoya Pérez

CO-DIRECTORA DE TESIS: M. C. Noemí García Ramírez

Instituto Tecnológico de Monterrey, campus Monterrey

Morelia, Mich. a julio de 2023.

Índice

1. Resumen	7
2. Abstract	8
3. Introducción	9
4. Antecedentes.....	11
4.1 Insuficiencia cardíaca	11
4.1.1 Clasificación de la insuficiencia cardíaca	12
4.2 Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada	15
4.2.1 Obesidad e insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada	16
4.2.2 Diabetes mellitus e insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada	18
4.2.3 Hipertensión e insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada	19
4.2.4 Intolerancia al ejercicio en la insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada.....	20
4.3 Músculo esquelético	22
4.3.1 Fibras musculares.....	23
4.4 Control de la actividad muscular esquelética.....	25
4.4.1 Unidad motora.....	25
4.4.2 Acoplamiento Excitación-Constracción.....	25
4.4.3 Receptor de rianodina.....	28
4.4.4 ATPasa de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico.....	29
4.4.5 Intercambiador Na^+/Ca^{2+}	30
4.4.6 Mitocondrias en el mecanismo del acoplamiento excitación constracción del músculo esquelético.....	30
4.5 Estrés oxidante	31
4.6 Homeostasis del Ca^{2+} alterada en el acoplamiento excitación-constracción del músculo esquelético	32
4.6.1 Alteraciones en RyR1	35
4.6.2 Alteraciones en SERCA1	36
4.6.3 Alteraciones en NCX.....	36
4.7 Fatiga muscular	37
4.8 Alteraciones del músculo esquelético en la insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada.....	38
4.9 Efecto del ejercicio de intensidad moderada en la ICFEp	40
5. Justificación	42

6. Hipótesis.....	42
7. Objetivos.....	42
7.1 Objetivo general.....	42
7.2 Objetivos específicos.....	43
8. Materiales y métodos.....	43
8.1 Aprobación ética.....	43
8.2 Modelo de ratón para el estudio de la insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada.....	43
8.3 Grupos experimentales:.....	44
8.4 Protocolo de ejercicio de intensidad moderada.....	45
8.5 Prueba de agotamiento por ejercicio.....	46
8.6 Eutanasia y disección muscular.....	47
8.7 Registro de tensión isométrica <i>in vitro</i>	48
8.8 Protocolo de inducción de la fatiga.....	49
8.9 Medición del estrés oxidante.....	50
8.9.1 Determinación de la Producción de Especies Reactivas de Oxígeno.....	50
8.9.2 Actividad de la catalasa.....	50
8.9.3 Determinación de los niveles de glutatión.....	51
8.10 Análisis de la expresión génica de las proteínas RyR1, SERCA1 y NCX3 por RT-qPCR.....	52
8.11 Análisis estadísticos.....	54
9. Resultados.....	55
9.1 Efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre la ganancia de peso corporal en un modelo de ratón con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada ...	55
9.2 Efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre los niveles de glucosa en un modelo de ratón con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada	56
9.3 Efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre la hipertrofia cardíaca en un modelo de ratón con ICFEp.....	56
9.3.1 Peso del músculo cardíaco.....	56
9.4 Efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre la congestión pulmonar en un modelo de ratón con ICFEp.....	57
9.4.1 Peso pulmonar.....	57
9.5 Efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre la prueba de distancia de carrera en un modelo de ratón con ICFEp	58
9.6 Efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre la fuerza de contracción del músculo sóleo en un modelo de ratón con ICFEp.....	59

9.7 Efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre el tiempo de resistencia a la fatiga del músculo sóleo en un modelo de ratón con ICFEp	60
9.8 Efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre marcadores de estrés oxidativo del músculo sóleo en un modelo de ratón con ICFEp	61
9.8.1 Niveles de Especies Reactivas de Oxígeno en el músculo sóleo	61
9.8.2 Actividad de catalasa en el músculo sóleo.....	62
9.8.3 Niveles de glutatión en el músculo sóleo	63
9.9 Efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre la expresión génica de RyR1, SERCA1 y NCX3 en el músculo sóleo en un modelo de ratón con ICFEp.....	65
10. Discusión	67
11. Conclusión	73
12. Literatura citada.....	74

Índice de figuras

Figura 1. Definición universal y características de la insuficiencia cardíaca.

Figura 2. Clasificación de la insuficiencia cardíaca según la fracción de eyección del ventrículo izquierdo

Figura 3. Mecanismo propuesto para la reducción del consumo y suministro de oxígeno en la ICFEp.

Figura 4. Modelo del acoplamiento excitación-contracción del músculo esquelético en pacientes sanos.

Figura 5. Mecanismos moleculares propuestos para la señalización alterada del Ca^{2+} y el aumento del estrés oxidante para el daño en la fibra muscular en pacientes enfermos.

Figura 6. Grupos experimentales.

Figura 7. Protocolo de ejercicio de intensidad moderada.

Figura 8. Prueba de agotamiento por ejercicio.

Figura 9. Registro de tensión *in vitro*.

Figura 10. El reciclaje enzimático de glutatión reducido (GSH) a partir de glutatión oxidado (GSSG) por la glutatión reductasa (GR) en presencia de NADPH.

Figura 11. Diagrama que muestra los pasos de la RT-qPCR.

Figura 12. Ganancia de peso corporal en los distintos grupos experimentales.

Figura 13. Glucosa en ayuno en los distintos grupos experimentales.

Figura 14. Peso del corazón en los distintos grupos experimentales.

Figura 15. Peso pulmonar en los distintos grupos experimentales

Figura 16. Distancia de carrera en los distintos grupos experimentales.

Figura 17. Tensión máxima y tensión total del músculo sóleo.

Figura 18. Tiempo de resistencia a la fatiga del músculo sóleo.

Figura 19. Especies reactivas de oxígeno en el músculo sóleo.

Figura 20. Actividad de la catalasa en el músculo sóleo.

Figura 21. Niveles de Glutación.

Figura 22. Expresión de ARNm de genes implicados en el acoplamiento excitación-contracción para la liberación (RYR1) y recaptura de Ca^{2+} (SERCA1, NCX3) en el músculo sóleo.

1. Resumen

La insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada (ICFEp) se caracteriza por la miopatía del músculo esquelético, la cual contribuye al desarrollo y progreso de este síndrome. El ejercicio es un tratamiento ampliamente utilizado que ha demostrado mejorar una variedad de trastornos gracias a sus efectos antioxidantes y antiinflamatorios. Hasta el momento, los efectos positivos asociados con el ejercicio sobre el músculo esquelético en la ICFEp se desconocen. Es por eso, que el objetivo del presente trabajo fue mostrar el efecto del ejercicio de intensidad moderada de 4 semanas sobre la fuerza de contracción muscular, el estado redox y la expresión de ARNm de genes implicados en el acoplamiento excitación-contracción para la liberación (RYR1) y recaptura de Ca^{2+} (SERCA1, NCX3) en el músculo sóleo en un modelo de ratón con ICFEp establecida después de 8 semanas de una dieta alta en grasa y L-NAME. Se utilizaron ratones macho C57BL/6J de 5 semanas de edad, divididos en 4 grupos: Control, Ejercitado, ICFEp, ICFEp-Ejercitados. Se midió la fuerza de contracción muscular y el tiempo de resistencia a la fatiga mediante registros de tensión *in vitro*, marcadores de estrés oxidativo y la evaluación de la expresión génica de RYR1, SERCA1 y NCX3 mediante qPCR. Se encontró que los ratones con ICFEp desarrollaron disfunción contráctil, fatiga temprana, desequilibrio redox y disminución en la expresión de ARNm de SERCA1 y NCX3. Por otro lado, el ejercicio mejoró la fuerza de contracción muscular y la resistencia a la fatiga, disminuyó la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO), aumentó la actividad de la catalasa y disminuyó la expresión de ARNm de RYR1, lo que se vio reflejado en un mejoramiento de la distancia de carrera. En conclusión, la disfunción contráctil y el estado redox alterado en paralelo con la disminución de la expresión de ARNm de SERCA1 y NCX3 contribuyen potencialmente al metabolismo anormal y a la intolerancia al ejercicio en la ICFEp, mientras que el ejercicio aeróbico mejoró parcialmente estos parámetros.

Palabras clave: enfermedades cardíacas, fatiga muscular, Ca^{2+} , estrés oxidante, actividad física.

2. Abstract

Heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF) is characterized by skeletal muscle myopathy, which contributes to the development and progression of this syndrome. Exercise is a widely used treatment that has been shown to improve a variety of disorders thanks to its antioxidant and anti-inflammatory effects. So far, the positive effects associated with exercise on skeletal muscle on HFpEF are unknown. For this reason, the aim of this study was to show the effect of 4-week moderate-intensity exercise on the force of muscle contraction, the redox state, and the mRNA expression of genes involved in excitation-contraction coupling for release (RYR1) and Ca^{2+} (SERCA1, NCX3) reuptake in the soleus muscle in a mouse model with HFpEF established after 8 weeks of a high-fat diet and L-NAME. Male C57BL/6J mice of 5 weeks of age were used, divided into 4 groups: Control, Exercised, HFpEF, and HFpEF-Exercised. Muscle contraction force and fatigue resistance time were measured using *in vitro* strain recordings, oxidative stress markers, and evaluation of RYR1, SERCA1, and NCX3 gene expression by qPCR. HFpEF mice were found to develop contractile dysfunction, early fatigue, redox imbalance, and decreased expression of SERCA1 and NCX3 mRNA. On the other hand, exercise improved muscle contraction strength and resistance to fatigue, decreased reactive oxygen species (ROS) production, increased catalase activity, and decreased RYR1 mRNA expression, which was found reflected in an improvement of the race distance. In conclusion, contractile dysfunction and altered redox state in parallel with decreased SERCA1 and NCX3 mRNA expression potentially contribute to abnormal metabolism and exercise intolerance in HFpEF, whereas aerobic exercise partially ameliorated these parameters.

Keywords: heart disease, muscle fatigue, Ca^{2+} , oxidative stress, physical activity.

3. Introducción

La insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada (ICFEp) no es solo una enfermedad de relajación cardíaca inadecuada, este síndrome clínico presenta un fenotipo fisiopatológico complejo que contribuye a la disfunción del músculo esquelético (Adams *et al.* 2017; Farris *et al.* 2017). La miopatía específica del músculo esquelético en la ICFEp contribuye al deterioro de la fuerza muscular y la fatiga temprana, además, se ha definido como una de las principales causas de intolerancia al ejercicio en esta entidad (Gupte y Hamilton, 2016; Weiss *et al.* 2017; Tucker *et al.* 2018; Kelley *et al.* 2022). A pesar de los conocimientos hasta ahora descritos, aún existe una disponibilidad limitada de estudios, por eso, se ha propuesto que las alteraciones en el acoplamiento excitación-contracción, como el aumento del estrés oxidativo y los cambios en la expresión de genes que mantienen la homeostasis del Ca^{2+} en la fibra muscular están relacionados con la disfunción del músculo esquelético y por lo tanto con la intolerancia al ejercicio en la ICFEp.

El acoplamiento excitación-contracción en el músculo esquelético se inicia cuando los túbulos T se despolarizan, lo que lleva a la detección de cambios en el potencial de membrana por los receptores de dihidropiridina (DHPR). En el músculo esquelético, los DHPR están directamente vinculados al receptor de rianodina (RyR1), que se encuentra en el retículo sarcoplásmico (RS). Como consecuencia ocurre una interacción alostérica entre DHPR y RyR1. RyR1 se abre y los iones Ca^{2+} fluyen hacia el mioplasma, iniciando la contracción. Después de la contracción, la ATPasa de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico (SERCA1) recaptura el Ca^{2+} del mioplasma a expensas de la hidrólisis de ATP, además, se activa el intercambiador sodio calcio (NCX) en el sarcolema para promover la relajación muscular al expulsar Ca^{2+} hacia el espacio extracelular (Michelucci *et al.* 2021; Bolaños *et al.* 2022). Estudios previos han sugerido que los niveles bajos de Ca^{2+} sarcoplásmico y la disminución de la tasa de liberación y recaptación de Ca^{2+} del RS contribuyen al aumento de la fatiga en el músculo esquelético en distintas condiciones patológicas

(Reiken *et al.* 2003; Bueno *et al.* 2010; Ferreira *et al.* 2010; Michelucci *et al.* 2021; Eshima, 2021).

El ejercicio de intensidad moderada es una terapia segura y eficaz para la ICFEp que ha demostrado reducir los factores de riesgo asociados como la hipertensión, la diabetes mellitus tipo 2 y la obesidad (Edelmann *et al.* 2011; Dieberg *et al.* 2015; McGarrah *et al.* 2016; Alpsoy, 2020; Celik y Yildiz, 2021). Además, su impacto en el músculo esquelético es notable al prevenir la atrofia muscular, mejorar la fuerza muscular y disminuir el estrés oxidativo en distintas condiciones clínicas (Febbraio *et al.* 2017; Margaritelis *et al.* 2020). Se ha demostrado que el entrenamiento aeróbico mejora el manejo de Ca^{2+} de los músculos esqueléticos que comprenden diferentes composiciones de fibra al modular la actividad y expresión de las proteínas RyR1, SERCA1 y NCX que colaboran con una mayor actividad de contractilidad del músculo esquelético (Inashima *et al.* 2003; Bueno *et al.* 2010; Ferreira *et al.* 2010).

Sin embargo, hasta la fecha no existe algún estudio que muestre el efecto de un protocolo de ejercicio de intensidad moderada sobre el manejo de Ca^{2+} y el estrés oxidativo del músculo esquelético en la ICFEp. El presente estudio se llevó a cabo para evaluar el efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre la fuerza de contracción muscular, el estrés oxidante y la expresión génica de RyR1, SERCA1 y NCX3 en el músculo esquelético de ratones con ICFEp. Se probó la hipótesis de que el ejercicio de intensidad moderada mejoraría la tolerancia al ejercicio, la fuerza de contracción muscular, el estrés oxidativo y la expresión génica de RyR1, SERCA1 y NCX3 en el músculo sóleo de ratones con ICFEp.

4. Antecedentes

4.1 Insuficiencia cardíaca

La insuficiencia cardíaca (IC) es actualmente una de las principales causas de ingresos hospitalarios y mortalidad en adultos en países desarrollados con una incidencia aproximada de 26 millones de personas a nivel mundial, además es un problema sanitario de primer orden por su incidencia, prevalencia y consumo de recursos (Trullás *et al.* 2021). La IC no es una patología única, por lo que se define como un síndrome clínico con signos y síntomas característicos resultantes de cualquier alteración estructural y/o funcional que afecte la capacidad del corazón para contraerse y/o relajarse, lo que impide lograr una irrigación adecuada para suplir las demandas metabólicas de los tejidos. Este síndrome es corroborado por criterios diagnósticos, que incluyen niveles elevados de péptidos natriuréticos (≥ 35 pg/mL de péptido natriurético cerebral (BNP) y ≥ 125 pg/mL de propéptido natriurético cerebral N-terminal (NT-proBNP)) y por evidencia objetiva de congestión pulmonar (Fig. 1) (McDonagh *et al.* 2021; Lin *et al.* 2021). La función miocárdica alterada del ventrículo izquierdo (VI) para llenarse o expulsar sangre conduce a trastornos hemodinámicos como hipoperfusión y congestión, lo que provoca las alteraciones neurohormonales antes mencionada en un intento por contrarrestar sus efectos (Piña *et al.* 2003).

La IC presenta síntomas y signos característicos. Su síntoma más común es la intolerancia al ejercicio, que se manifiesta como disnea y fatiga, donde la disnea por esfuerzo progresivo puede presentarse también en reposo. Por otro lado, los signos más comunes son presión venosa yugular elevada, crepitantes pulmonares y edema periférico; que en conjunto afectan la capacidad funcional y la calidad de vida de los individuos (Hunt *et al.* 2005; Philipp *et al.* 2017).

Otra característica importante de la IC es la presencia de enfermedades metabólicas coexistentes, como la obesidad, la diabetes mellitus tipo 2 y la hipertensión arterial, las cuales contribuyen al fenotipo de la IC favoreciendo el

establecimiento del síndrome (Fig. 1) (Wood *et al.* 2021). La presencia de estas enfermedades ha dificultado su diagnóstico y tratamiento, disminuyendo la calidad de vida de los pacientes con IC (Conde-Martel *et al.* 2016; Philipp *et al.* 2017).

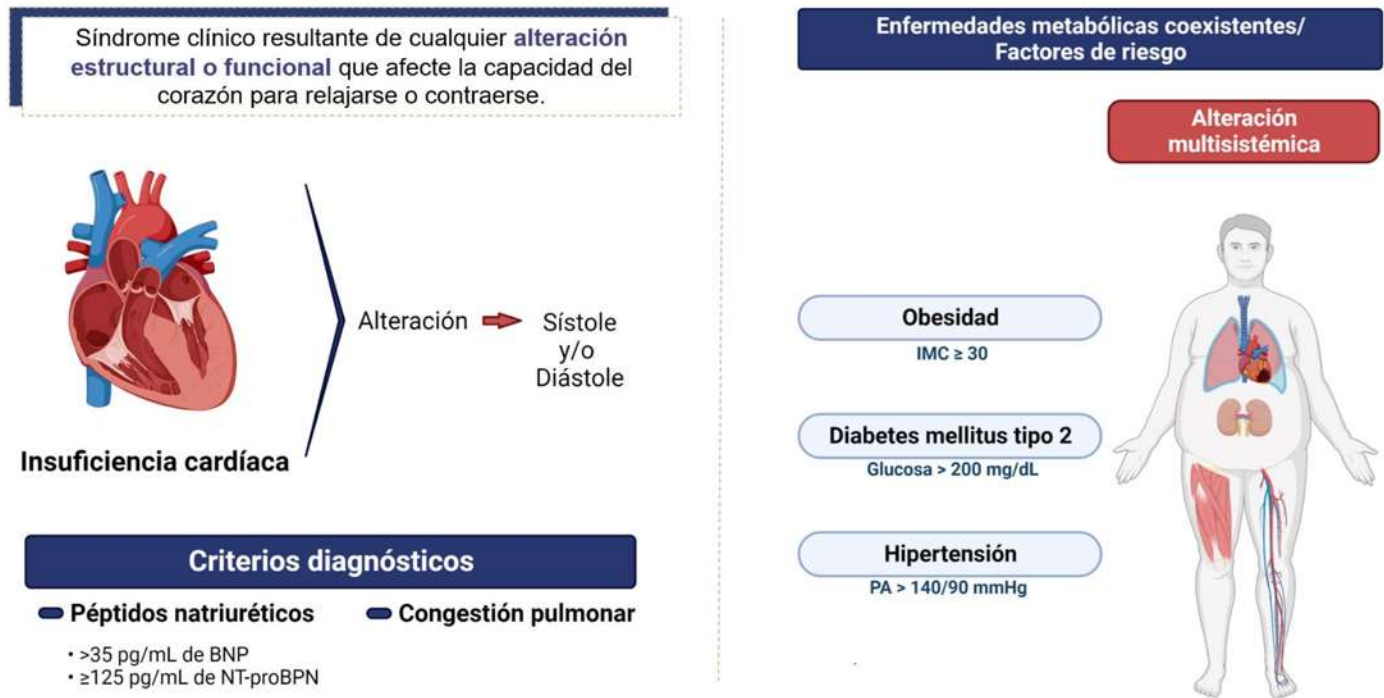


Fig. 1. Definición universal y características de la insuficiencia cardíaca. BNP, brain natriuretic peptide. NT-proBPN, N-terminal probrain natriuretic peptide. IMC, índice de masa corporal. PA, presión arterial. Elaborada por Martínez, 2023; BioRender.com.

4.1.1 Clasificación de la insuficiencia cardíaca

Son varios los criterios que existen para clasificar a la IC, los cuales incluyen la clase funcional según la New York Heart Association (NYHA), las etapas de la IC y hasta las categorías de fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI). La clasificación de la IC por FEVI es crucial por las distintas respuestas a las terapias y porque numerosos ensayos clínicos la utilizan como criterio de inclusión (Bozkurt

et al. 2021). En función de la medición de la FEVI, que es el porcentaje de sangre que se expulsa con cada latido, la IC se clasifica en (Fig. 2):

- **Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada (ICFEp):** presenta una **FEVI $\geq 50\%$** , aquí la FEVI se mantiene normal, y se caracteriza por inflamación microvascular coronaria debida a comorbilidades preexistentes que conduce a rigidez e hipertrofia de los cardiomiocitos. Solo la función diastólica se encuentra alterada, específicamente, se presenta una relajación prolongada con una sístole normal (Fig. 2) (McDonagh *et al.* 2021; Bozkurt *et al.* 2021; Gevaert *et al.* 2022).
- **Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección de rango medio o levemente reducida (ICFErm):** presenta una **FEVI del 40-49%**, debido a que la medición de la FEVI es propensa a errores. La ICFErm actúa como una zona de amortiguamiento para reducir el error de clasificación entre ICFEr e ICFEp en la investigación y la práctica clínica. Estos pacientes tienen, en promedio, características que son más similares a la ICFEr que a la ICFEp (Fig. 2) (Bozkurt *et al.* 2021).
- **Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección reducida (ICFEr):** presenta una **FEVI $< 39\%$** y se caracteriza por la lesión directa de los cardiomiocitos debido a toxicidad, infección o isquemia resultante de un infarto al miocardio. Aquí, la función diastólica y sistólica presentan una reducción significativa (Fig. 2) (Bozkurt *et al.* 2021; Gevaert *et al.* 2022).
- **Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección mejorada (ICFEme):** es una subcategoría más reciente de la IC que se caracteriza por una FEVI inicial $\leq 40\%$, un aumento de $\geq 10\%$ desde la FEVI inicial, y una segunda medición de FEVI $> 40\%$. Especialmente en pacientes más jóvenes con poca cicatriz miocárdica (miocardiopatía dilatada) en los cuales se observa

una recuperación de la ICFeR; esto no se considera ICFeP sino ICFeMe (Halliday *et al.* 2022).

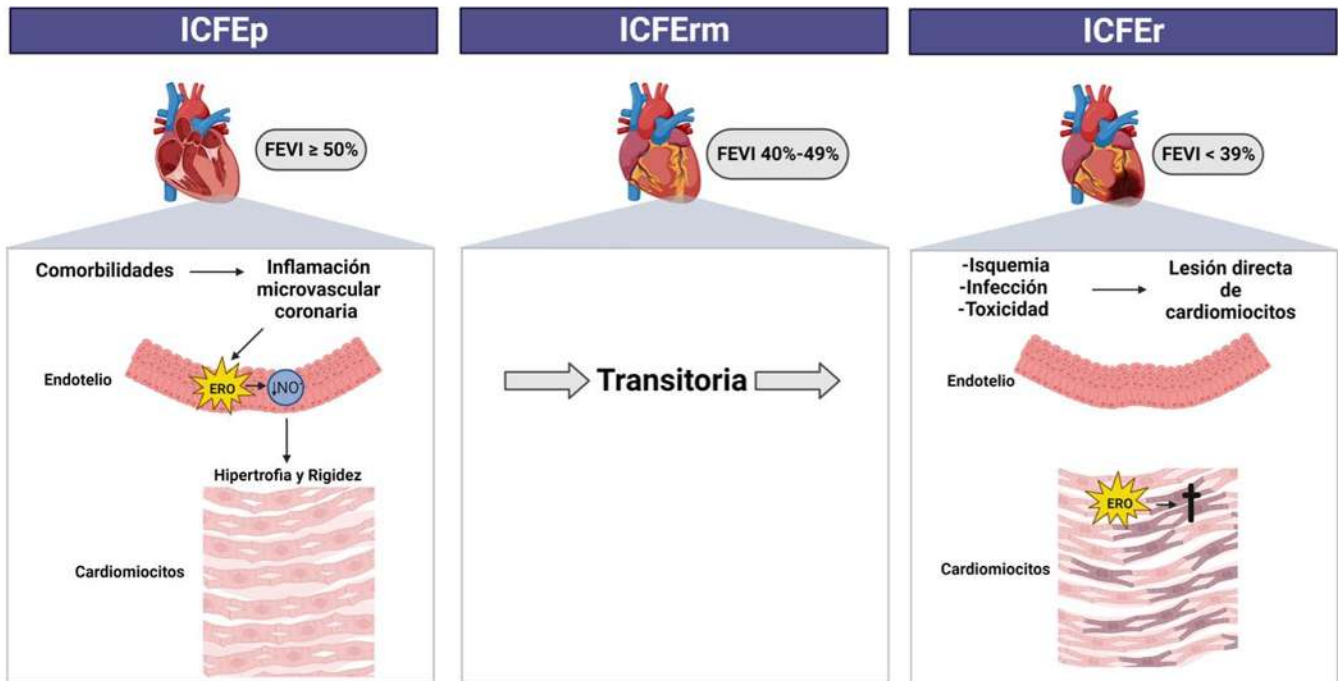


Fig. 2. Clasificación de la insuficiencia cardíaca según la fracción de eyección del ventrículo izquierdo. ICFeP, insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada. ICFeM, insuficiencia cardíaca con fracción de eyección de rango medio. ICFeR, insuficiencia cardíaca con fracción de eyección reducida. FEVI, fracción de eyección del ventrículo izquierdo. ERO, especies reactivas de oxígeno. NO•, óxido nítrico. Imagen modificada de Gevaert *et al.* 2022. Elaborada por Martínez, 2023; BioRender.com.

La ICFeR y la ICFeP son dos entidades diferentes de IC con causas diferentes, pero con resultados de morbilidad y mortalidad similares. La diferenciación entre estos tipos es importante debido a las diferentes comorbilidades y respuesta a las terapias (Nichols *et al.* 2015; Seiler *et al.* 2016). En la ICFeP se ha observado ausencia de beneficios con el tratamiento modificador de la enfermedad para la ICFeR tales como los inhibidores de la

neprisilina y el receptor de angiotensina, inhibidores del sistema renina angiotensina, bloqueadores beta adrenérgicos, antagonistas de los receptores de mineralocorticoides e inhibidores del cotransportador de sodio-glucosa tipo 2, lo que indica que la ICfEp y la ICfEr son entidades con distinto sustrato fisiopatológico (Kelley *et al.* 2022).

4.2 Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada

De todos los pacientes con IC, más del 50% presenta ICfEp, su incidencia ha aumentado debido al incremento de las comorbilidades asociadas. La ICfEp se define como un síndrome clínico con síntomas y/o signos causados por anomalías cardíacas estructurales/funcionales, específicamente, disfunción diastólica y elevación en la presión de llenado del ventrículo izquierdo con fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) ≥ 50 %, y al menos la presencia de uno de los siguientes: péptidos natriuréticos elevados; o evidencia objetiva de congestión pulmonar o sistémica cardiogénica. Una característica importante de este síndrome es el distinto perfil de comorbilidades, con una mayor prevalencia de obesidad, diabetes mellitus tipo 2 e hipertensión arterial (Pieske *et al.* 2019; Kittleson *et al.* 2023).

Esta población generalmente tiene > 60 años, con predominio del sexo femenino, presencia de hipertrofia ventricular concéntrica y fibrilación auricular. El antecedente de infarto al miocardio es menos frecuente y se ha observado que los individuos poseen una mejor clase funcional basal y una mejor percepción de su propia calidad de vida (Araiza-Garaygordobil *et al.* 2019). Hasta ahora, la ICfEp ha sido escasamente caracterizada, debido a su fenotipo fisiopatológico complejo, además, la supervivencia con esta condición no ha mejorado en las últimas décadas, por eso, la ICfEp se ha clasificado como “la mayor necesidad no cubierta en medicina cardiovascular” en base a la prevalencia y la ausencia de tratamientos disponibles aprobados hasta la fecha (Paulus *et al.* 2020; Wood *et al.* 2021).

La ICFEp se considera la consecuencia final de una serie de mecanismos inflamatorios presentes en diversas enfermedades crónicas. La multimorbilidad crea un medio proinflamatorio/metabólico sistémico que conduce a inflamación microvascular coronaria que resulta en remodelación cardíaca (Iacopo *et al.* 2022; Saavedra-Alvarez *et al.* 2022; Pugliese *et al.* 2022).

La disfunción diastólica en la ICFEp promueve cambios en la hemodinámica cardíaca, de tal manera que el gasto cardíaco normal solo se obtiene aumentando las presiones de llenado del ventrículo izquierdo (VI) sin dilatación del VI. El corazón con disfunción diastólica mantiene su gasto sistólico a expensas del volumen diastólico. Además, el aumento de la contribución de la contracción auricular al llenado ventricular es un importante mecanismo de adaptación, reduciendo la presión dentro de la aurícula izquierda y en el territorio venocapilar pulmonar, produciendo finalmente un aumento de la aurícula izquierda (Philipp-Rommel *et al.* 2017; Panneroni *et al.* 2018; Schiattarella *et al.* 2021).

Por otro lado, la disfunción a nivel de músculo cardíaco no es el único factor que explica el fenotipo fisiopatológico y el desarrollo de la ICFEp, por ello, se considera que la fisiopatología de la ICFEp presenta todavía vertientes que escapan de una comprensión profunda y en los últimos años el entendimiento de los mecanismos fisiopatológicos de la ICFEp han pasado de una visión meramente hemodinámica a un concepto de afectación sistémica y multifactorial en la que interaccionan y se concatenan múltiples mecanismos, con efectos más allá del propio corazón, en órganos de vital importancia, un ejemplo claro es el músculo esquelético (Araiza-Garaygordobil *et al.* 2019; Wood *et al.* 2021).

4.2.1 Obesidad e insuficiencia cardiaca con fracción de eyección preservada

La obesidad es un problema de salud pública creciente en México y en todo el mundo. Para el año 2030, se prevé que mil millones de personas en todo el mundo, incluyendo 1 de cada 5 mujeres y 1 de cada 7 hombres vivirán con obesidad (IMC

≥ 30 kg/m²) (Lobstein *et al.* 2022). Aproximadamente el 29-40% de los pacientes con IC tienen sobrepeso (IMC 25-29.9 kg/m²) y el 30-49% de los pacientes con IC son obesos (IMC ≥ 30 kg/m²) (Horwich *et al.* 2018). La obesidad es significativamente más frecuente en pacientes con ICfEp que en pacientes con ICfEr, con más del 80% de los pacientes con ICfEp que tienen sobrepeso u obesidad (Lewis *et al.* 2017).

La obesidad es un estado inflamatorio crónico, que se ha definido como una “metainflamación”, una respuesta inflamatoria crónica de bajo grado inducida por el metabolismo (Schiattarella *et al.* 2021). Se ha identificado una especificidad del fenotipo obeso en la ICfEp donde se ha enfatizado el papel desfavorable que juegan en este contexto la neprilisina, la leptina y la aldosterona (Obokata, 2017). Se ha demostrado que la distribución de la adiposidad tiene un papel crítico en el impacto de la obesidad en la incidencia de ICfEp (Tsujimoto *et al.* 2017).

La presencia extensa de tejido adiposo visceral y tejido adiposo epicárdico es una característica de la ICfEp, los cuales, podrían interactuar en el curso de la progresión del síndrome de la ICfEp y probablemente impacten en el tratamiento y su prevención (Tsujimoto *et al.* 2017; Horwich *et al.* 2018). El tejido adiposo epicárdico tiene un papel especialmente importante como productor en modo autocrino/paracrino de mediadores inflamatorios que actúan sobre la microcirculación coronaria y las células miocárdicas (Obokata *et al.* 2017; Koepp *et al.* 2020). El tejido adiposo también, promueve de modo indirecto otras comorbilidades como la resistencia a la insulina y la hipertensión. Es metabólicamente muy activo, de modo que es capaz de liberar ácidos grasos y adipocinas, que participan en la promoción de un estado proinflamatorio sistémico (Schiattarella *et al.* 2021; Clemenza *et al.* 2022). Por tanto, la ICfEp es un ejemplo de cómo las alteraciones metabólicas e inflamatorias se entrelazan en mecanismos fisiopatológicos fundamentales (Schiattarella *et al.* 2021). Hasta ahora, parece ser que el impacto de la obesidad en la fisiopatología de la ICfEp abarca mecanismos hemodinámicos, neurohumorales e inflamatorios (Clemenza *et al.* 2022). Sin embargo, estos mecanismos no están completamente esclarecidos.

4.2.2 Diabetes mellitus e insuficiencia cardiaca con fracción de eyección preservada

Existen en el mundo más de 500 millones de personas con diabetes mellitus (DM) (Sun *et al.* 2022). Entre la DM y la IC existe una interrelación: en pacientes con DM tipo 1 (DM1), la insuficiencia cardíaca se desarrolla en el contexto de una respuesta inmune desregulada, mientras que en la mayoría de los pacientes con DM tipo 2 (DM2), se desarrolla en un contexto de sobrepeso/obesidad. La DM2 incluye aproximadamente al 90% de todos los pacientes con DM (Triposkiadis *et al.* 2021).

Presentar IC o DM aumenta la probabilidad de desarrollar la otra, alrededor del 15% de los pacientes con DM desarrollan IC mientras que alrededor del 30% de los pacientes con IC desarrollan DM (Bouthoorn *et al.* 2018; Zareini *et al.* 2019; Palau *et al.* 2020). La DM empeora el pronóstico de los pacientes con IC FEp, al aumentar el riesgo de mortalidad y hospitalización en un 75% más que los pacientes sin diabetes (Lorenzo-Almorós *et al.* 2022).

La IC asociada a la DM se ha atribuido al efecto tóxico directo de la hiperglucemia y a los efectos metabólicos sobre el miocardio, así como la coexistencia de hipertensión arterial, disfunción microvascular coronaria, nefropatía diabética y enfermedad del hígado graso no alcohólico (Triposkiadis *et al.* 2021). En la DM la hiperglucemia crónica induce un mayor estrés oxidativo, estimula vías fibrogénicas, aumenta las respuestas neurohormonales, activa factores de crecimiento, induce la producción de citocinas proinflamatorias y activa las vías no oxidativas de la glucosa tales como la vía de los polioles, la vía de la hexosamina, los productos finales de la glucosilación avanzada y la proteína cinasa C (PKC), las cuales, producen efectos adversos sobre las células endoteliales cardíacas y, por lo tanto, contribuyen a la disfunción miocárdica al promover la rigidez y la hipertrofia, los cuales son efectos de la IC FEp (Jia *et al.* 2018; Triposkiadis *et al.* 2021; Tuleta y Frangogiannis, 2021; Lorenzo-Almorós *et al.* 2022).

Por otro lado, el desarrollo de DM2 de nueva aparición en la IC se ha atribuido a un aumento de la resistencia a la insulina, especialmente en el músculo

esquelético, el hígado y el tejido adiposo, así como a una respuesta secretora de insulina disminuida por parte de las células β del páncreas (Triposkiadis *et al.* 2021). La IC da lugar a la activación de 2 sistemas neurohormonales: el sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAA) y el sistema nervioso simpático. El primero aumenta la retención de sodio y agua, mientras que el segundo activa la lipogénesis y la gluconeogénesis, contribuyendo a la resistencia a la insulina y consecuentemente a la diabetes (Dei-Cas *et al.* 2015; Maack *et al.* 2018; Lorenzo-Almorós *et al.* 2022).

La IC y la DM2 son dos enfermedades afectadas por la atrofia del músculo esquelético. Sin embargo, si se presentan las dos condiciones al mismo tiempo, se exacerbaban los síntomas y los resultados clínicos en comparación con la IC no asociada a alteraciones metabólicas. En la IC FEp se ha propuesto que la DM es una de las principales condiciones que inducen un mayor fenotipo atrofico y disfunción del músculo esquelético (Yano *et al.* 2020; Wood *et al.* 2021).

4.2.3 Hipertensión e insuficiencia cardiaca con fracción de eyección preservada

La hipertensión arterial tiene una alta incidencia en el mundo, alrededor de 1280 millones de personas la padecen. Siendo el factor de riesgo más importante que contribuye al desarrollo y progresión de la IC (Miao *et al.* 2022). Aproximadamente 1 de cada 3 o 4 adultos desarrollan IC cuando la presión arterial (PA) es superior a 160/100 mmHg. La PA alta ha demostrado aumentar la prevalencia, la rehospitalización y la mortalidad de los pacientes con IC FEp (Di Palo y Barone, 2020; Lin *et al.* 2021).

La progresión de la hipertensión a la IC es compleja y multifacética. Los cuatro grados de cardiopatía hipertensiva descritos son: (1) disfunción diastólica aislada, se refiere a anomalías en la relajación del ventrículo izquierdo (VI), aquí, se ubican los pacientes que muestran anomalías en los parámetros diastólicos pero permanecen asintomáticos; (2) disfunción diastólica con hipertrofia del ventrículo

izquierdo (HVI); (3) ICFEp, una vez que los síntomas de disnea e intolerancia al ejercicio se desarrollan junto con signos de retención de líquidos siempre que la función sistólica permanezca normal; (4) ICFEr, la hipertensión también puede ocasionar daños isquémicos, ocasionados por infarto al miocárdico (Messerli *et al.* 2017; Sorrentino, 2019; Di Palo y Barone, 2020).

La activación de sistemas hormonales, como el sistema nervioso adrenérgico y el sistema renina angiotensina-aldosterona (RAA), pueden promover la HVI, los cuales se activan por el aumento de la poscarga en el VI, que ocasiona estrés sobre la pared del VI (Sorrentino, 2019). Además, la hipertensión promueve la inflamación impulsada por la activación del sistema RAA, el cual es un factor muy importante para el desarrollo de la ICFEp (Pugliese *et al.* 2019; Murray *et al.* 2021).

4.2.4 Intolerancia al ejercicio en la insuficiencia cardiaca con fracción de eyección preservada

La intolerancia al ejercicio es el síntoma principal y persistente de la ICFEp, y determinante importante de la reducción de la calidad de vida en estos individuos, por lo que se usa como medida diagnóstica para establecer las terapias. A diferencia de la ICFEr, los mecanismos que contribuyen al desarrollo de la intolerancia en la ICFEp aún no se comprenden (Gupte y Hamilton, 2016).

Se ha sugerido que el principal contribuyente es la reducción del gasto cardíaco, también se propone que la fibrosis extensa y la hipofosforilación de la titina generan la rigidez en el VI, lo que contribuye a las limitaciones cardíacas durante el ejercicio (ver Fig. 3). El aumento de la rigidez diastólica impide el aumento del volumen telediastólico del VI que normalmente acompaña al ejercicio, por lo que los individuos con ICFEp tienen una capacidad limitada, según la ley de Frank-Starling, a pesar de las mayores presiones de llenado (Little *et al.* 2000). El aumento de la velocidad de relajación no se produce a medida que aumenta la frecuencia cardíaca durante el ejercicio, por lo tanto, la presión diastólica aumenta, el volumen sistólico

no cambia y los pacientes con ICFEp experimentan disnea y fatiga (Little y Borlaug, 2015).

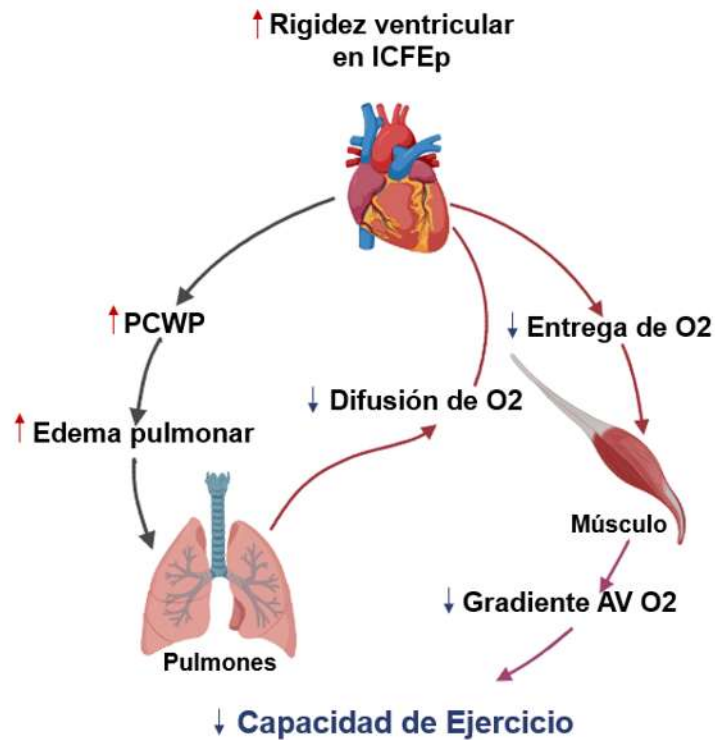


Fig. 3. Mecanismo propuesto para la reducción del consumo y suministro de oxígeno en la ICFEp. La rigidez ventricular conduce a un aumento de la presión de llenado diastólico del ventrículo izquierdo y de la presión de enclavamiento capilar pulmonar (PCWP). Esto da como resultado un aumento del agua pulmonar y edema alveolar que limita la difusión de oxígeno. A su vez, hay una disminución del suministro de oxígeno debido a los efectos combinados de la reducción del gasto cardíaco y del contenido arterial de oxígeno. Los mecanismos periféricos conducen a una extracción deficiente de oxígeno en los lechos del músculo esquelético, lo que resulta en una disminución de la capacidad de ejercicio. Imagen modificada de Gupte y Hamilton, 2016. Elaborada por Martínez, 2023; BioRender.com.

En contraste, existe evidencia que indica que la limitación del ejercicio en la ICFEp no se relaciona con el grado de disfunción cardíaca, lo que sugiere que una proporción de los síntomas en los individuos con ICFEp, se debe a deficiencias periféricas, incluida la miopatía del músculo esquelético (Tucker *et al.* 2018; Wood

et al. 2021). En este sentido pacientes con ICFEp muestran una reducción en el porcentaje de fibras musculares tipo I (oxidativas) y enzimas oxidativas, además, presencia de respiración mitocondrial anormal. También, la morfología y la función anormal del músculo esquelético tienen un impacto en la limitación de la tolerancia al ejercicio en pacientes con ICFEp, dado que la mayor parte del oxígeno consumido durante el ejercicio ocurre en el músculo. Una disminución en el tejido metabólicamente activo puede limitar la tolerancia al ejercicio, no solo la pérdida de masa corporal magra, sino también la calidad del músculo. Un claro ejemplo es el aumento del tejido adiposo intermuscular (Haykowsky *et al.* 2013; Haykowsky *et al.* 2014; Tucker *et al.* 2018). Estas anomalías del músculo esquelético contribuyen al deterioro del metabolismo oxidativo con un cambio más temprano hacia el metabolismo glucolítico durante el ejercicio que está fuertemente asociado con la intolerancia al ejercicio.

4.3 Músculo esquelético

El músculo esquelético es un órgano contráctil y es el principal componente tisular del organismo; está sometido a control voluntario por el sistema nervioso central y desempeña un papel esencial en numerosas actividades como el mantenimiento de la postura, el movimiento, el habla y la respiración (Koeppen y Stanton, 2009). Los músculos esqueléticos están constituidos por células alargadas multinucleadas: las fibras musculares. Cada fibra muscular está delimitada por el sarcolema y contienen en el sarcoplasma unas miofibrillas responsables de la contracción muscular. Las miofibrillas tienen miofilamentos que confiere al músculo ese aspecto estriado que se observa al microscopio (Mekrami y Brignol, 2006; Quiroz-Gutiérrez 2012). Los músculos esqueléticos, además, están irrigados por vasos sanguíneos y fibras nerviosas, los cuales son esenciales para el funcionamiento muscular (Ira-Fox, 2011).

4.3.1 Fibras musculares

Las fibras musculares tienen una forma alargada poco común, a pesar de eso, tienen los mismos orgánulos que están presentes en otras células: mitocondrias, retículo sarcoplásmico, gránulos de glucógeno, entre otros. Su diámetro varía entre 10 y 80 μm que se extienden a lo largo de toda la longitud del músculo. Cada fibra muscular se forma por la unión de varias células multinucleadas, a diferencia de casi todas las otras células del cuerpo. Esto se debe a que cada fibra muscular es una estructura sincicial que se forma por la unión de varias células de mioblasto embrionarias (Ira-Fox, 2011; Quiroz-Gutiérrez, 2012).

4.3.1.1 Clasificación de las fibras musculares

Se han descrito cuatro tipos de fibras basadas en la presencia de la cadena pesada de miosina y con base en sus propiedades contráctiles: I, IIA, y IIB (Gollnick, 1970; Bolaños *et al.* 2022). Todos los músculos del cuerpo están formados por una mezcla de fibras musculares rápidas y lentas, con otras fibras intermedias entre estos dos extremos (Guyton y Hall, 2016).

4.3.1.1.1 Fibras de tipo I de contracción lenta o fibras rojas.

Las fibras de tipo I son de pequeño diámetro y están inervadas por fibras nerviosas más pequeñas. Tienen un sistema de vascularización extenso y contienen grandes cantidades de mioglobina para aportar cantidades adicionales de oxígeno. La mioglobina da al músculo lento un aspecto rojizo, de ahí el nombre de fibras rojas. También tienen numerosas mitocondrias para mantener niveles elevados de metabolismo oxidativo y poco glucógeno. Estas fibras son resistentes a la fatiga: se utilizan sobre todo en el mantenimiento de la postura, en ejercicios poco enérgicos y prolongados (Mekrami y Brignol, 2006; Guyton y Hall, 2016). Las fibras lentas

satisfacen sus necesidades metabólicas mediante la fosforilación oxidativa y, por eso, estos músculos se fatigan de forma más lenta, y se utilizan para actividades más prolongadas (Koeppen y Stanton, 2009).

4.3.1.1.2 Fibras de tipo IIA

Son fibras intermedias cuyo porcentaje varía según los músculos del organismo y el individuo (Mekrami y Brignol, 2006). Estas fibras responden a las exigencias del metabolismo aeróbico y anaeróbico (Gollnick, 1970).

La relación fibras lentas/rápidas puede evolucionar en función del entrenamiento y el tipo de ejercicio practicado. Numerosas fibras IIA o intermedias evolucionan hacia el tipo I a consecuencia de ejercicio prolongado y moderado como el entrenamiento de fuerza. En cambio, los ejercicios breves e intensos de resistencia, de 30 s a 2 min, provocan la evolución de las fibras IIA hacia el tipo IIB (Mekrami y Brignol, 2006).

4.3.1.1.3 Fibras de tipo IIB de contracción rápida o fibras blancas

Las fibras rápidas son de mayor diámetro para obtener una gran fuerza de contracción. Tienen una vascularización menos extensa que las lentas, también, presentan menos mitocondrias que las lentas, porque el metabolismo oxidativo tiene una importancia secundaria. El déficit de mioglobina en el músculo rápido le da el nombre de músculo blanco. Contienen mucho glucógeno y grandes cantidades de enzimas glucolíticas para la liberación rápida de energía por vía de la glucólisis. Estas fibras, que son poco resistentes a la fatiga, aunque muy potentes, se utilizan en los ejercicios breves pero intensos (Mekrami y Brignol, 2006; Guyton y Hall, 2016). Dado que las fibras rápidas dependen del metabolismo glucolítico, se fatigan

con rapidez. Por ello, sólo se utilizan de manera ocasional (Koeppen y Stanton, 2009).

4.4 Control de la actividad muscular esquelética

La contracción del músculo esquelético se explica por el mecanismo de deslizamiento de los filamentos que describe el acortamiento del sarcómero mediante una serie de cambios químicos y estructurales (MacLaren y Morton, 2012). Un mensaje viaja desde el sistema nervioso hasta el sistema muscular, y desencadena distintas reacciones químicas para la ejecución de la contracción muscular (Ira-Fox, 2011).

4.4.1 Unidad motora

Se conoce como unidad motora a cada neurona motora somática, junto con todas las fibras musculares que inerva (Ira-Fox, 2011). Las terminaciones motoras se ponen en íntimo contacto con la fibra muscular a través de sus arborizaciones terminales amielínicas y se extienden en la placa motora o unión neuromuscular, la cual es la zona de conexión entre el nervio de tipo motor y el músculo (Quiroz-Gutiérrez, 2012). La neurona motora estimula la fibra muscular y libera acetilcolina en la placa motora, la unión del neurotransmisor a los receptores nicotínicos de acetilcolina (AChR) en el sarcolema da origen a potenciales de acción en la fibra muscular (Koeppen y Stanton, 2009).

4.4.2 Acoplamiento Excitación-Contracción

El acoplamiento excitación contracción (AEC) describe la comunicación entre los eventos eléctricos que ocurren en el sarcolema de las fibras del músculo esquelético y la liberación de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico (RS), lo que inicia la contracción muscular (Calderón *et al.* 2014).

La iniciación y propagación del potencial de acción a lo largo del sarcolema se dirige al sistema tubular transversal (túbulos T), donde los cambios en el potencial de membrana son detectados por los receptores de dihidropiridina (DHPR) lo que permite la interacción alostérica entre DHPR y los receptores de rianodina (RyR1) del retículo sarcoplásmico (RS). La liberación de Ca^{2+} del RS y el aumento transitorio de la concentración de Ca^{2+} en el sarcoplasma conduce a la interacción de la subunidad de troponina C (TnC) en el filamento delgado con el Ca^{2+} ; la interacción troponina- Ca^{2+} elimina la inhibición impuesta por la troponina I y la tropomiosina sobre la interacción actina-miosina, permitiendo que los filamentos delgados se deslicen sobre los gruesos, y estos en presencia de ATP conducen al acortamiento de las fibras y la generación de la fuerza. Finalmente, cuando se detiene la estimulación de la neurona motora, se interrumpe la reacción química que provoca la reorganización de las proteínas de las fibras musculares (Calderón *et al.* 2014; Guyton y Hall, 2016; Bolaños *et al.* 2022). La disociación del Ca^{2+} de la TnC, seguida de la desaparición del Ca^{2+} del sarcoplasma mediante su recaptación por el RS a través de la bomba ATPasa de Ca^{2+} (SERCA1, por sus siglas en inglés) y la activación en conjunto del movimiento de Ca^{2+} a la mitocondria, extrusión por el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX) y la maquinaria SOCE (por sus siglas en inglés, Store-Operated Ca^{2+} Entry), que en condiciones de agotamiento local o global de las reservas de Ca^{2+} del RS proporciona una fuente adicional de Ca^{2+} que se origina en el espacio extracelular, conducen al cese de la interacción entre la actina y los filamentos de miosina, para la consecuente relajación muscular (ver Fig. 4) (Delbono, 2002; Calderón *et al.* 2014; Guyton y Hall, 2016; Michelucci *et al.* 2021; Bolaños *et al.* 2022).

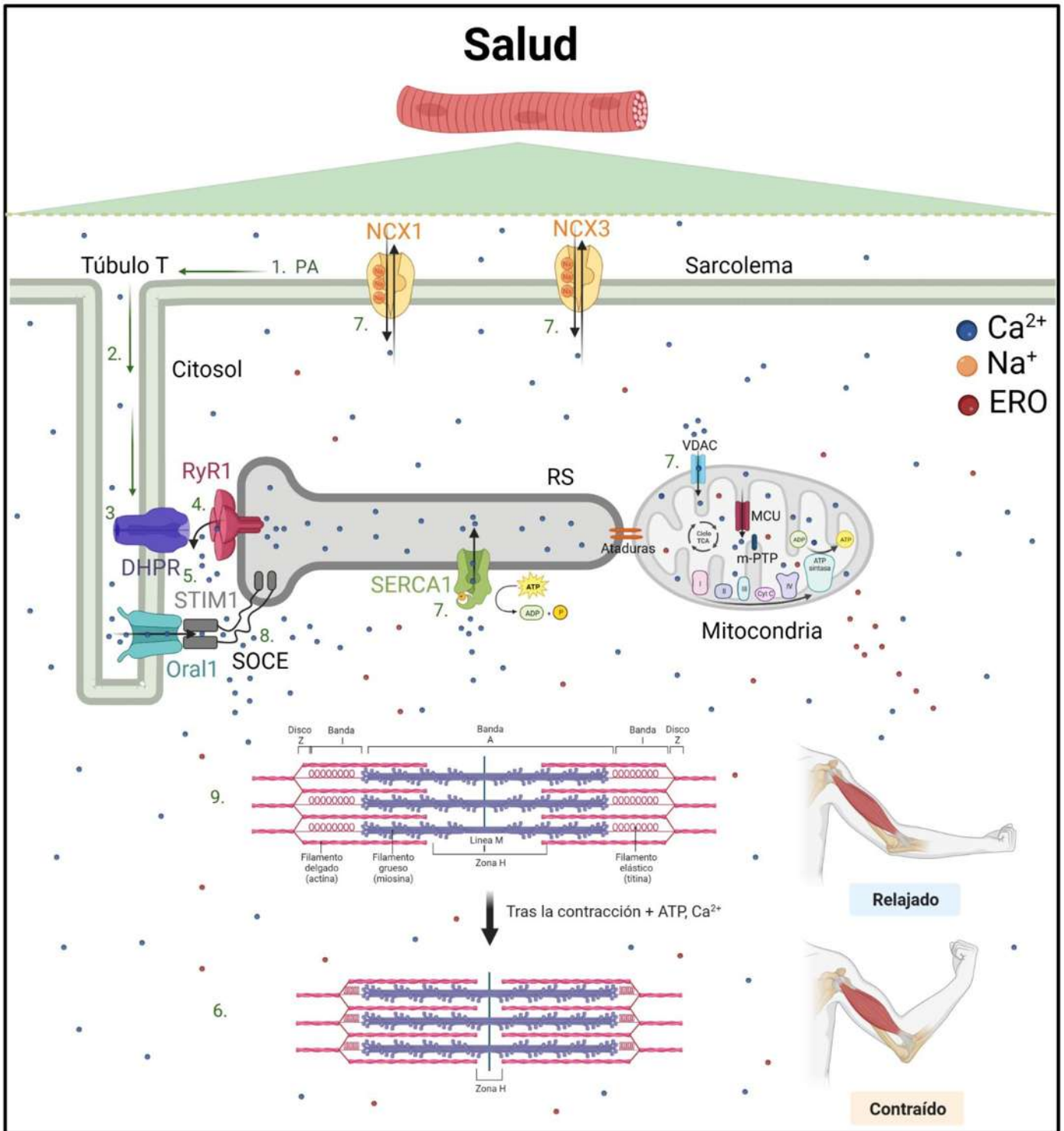


Fig. 4. Modelo del acoplamiento excitación-contracción del músculo esquelético en pacientes sanos. (1) Iniciación y propagación de un potencial de acción a lo largo del sarcolema, (2) propagación del potencial a través del túbulo T, (3) detección mediada por receptores de dihidropiridina (DHPR) de cambios en el potencial de membrana, (4) interacción alostérica entre

DHPR y RyR1, **(5)** liberación de Ca^{2+} del RS a través de RyR1 y aumento transitorio de la concentración de Ca^{2+} en el sarcoplasma, **(6)** activación del sistema amortiguador del Ca^{2+} sarcoplásmico y del aparato contráctil, **(7)** desaparición del Ca^{2+} del sarcoplasma mediada por su recaptación al RS a través de SERCA1, y bajo varias condiciones movimiento a las mitocondrias y extrusión por NCX, **(8)** SOCE, se activa en respuesta al agotamiento de Ca^{2+} en el RS y funciona como un guardián del Ca^{2+} total dentro de la fibra muscular al rellenar estas reservas y retrasar la fatiga, **(9)** relajación muscular. RYR1, receptor de rianodina 1. SERCA1, ATPasa de Ca^{2+} . NCX3, intercambiador sodio calcio. SOCE, entrada de Ca^{2+} operada por almacenamiento, por sus siglas en inglés, “store-operated Ca^{2+} entry”. RS, retículo sarcoplásmico. AEC, acoplamiento excitación contracción. Elaborada por Martínez, 2023; BioRender.com.

4.4.3 Receptor de rianodina

El receptor de rianodina (RyR) es un receptor ubicado en el RS con una estructura de tetrámero. Este receptor presenta 3 isoformas: RyR1 se expresa en el músculo esquelético y en linfocitos B; RyR2 se expresa en el músculo cardíaco, en las células de Purkinje del cerebelo y la corteza cerebral; mientras que RyR3 se expresa en el cerebro (Agrawal *et al.* 2018).

En el músculo esquelético, su función al abrirse permite una liberación rápida, masiva y altamente regulada de Ca^{2+} desde el RS hacia el sarcoplasma. Además, del DHPR, los reguladores endógenos de la función de liberación de Ca^{2+} del RyR1, que actúan desde el lado sarcoplásmico o luminal del RS incluyen: ATP, Ca^{2+} , Mg^{2+} , especies reactivas de oxígeno (ERO), especies reactivas de nitrógeno (ERN), estado redox, estado de fosforilación/desfosforilación, calmodulina, S100A1, proteína de unión a FK 506 12 (FKBP12 o calstabin-1), proteína fosfatasa 1 (PP1), triadina (Trisk-95 y Trisk-51), junctina, homer-1, calumenina-2 y calsecuestrina (CASQ) (Gehlert *et al.* 2015; Bolaños *et al.* 2022).

4.4.4 ATPasa de Ca²⁺ del retículo sarcoplásmico

La ATPasa de Ca²⁺ del retículo sarcoplásmico (SERCA, por sus siglas en inglés, *sarco/endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase*) es una proteína perteneciente a la familia de ATPasas de tipo P y se localiza principalmente en la región longitudinal del RS (Periasamy y Kalyanasundaram, 2007; Watson, 2015; Rathod *et al.* 2021; Xu y Van Remmen, 2021). La familia de proteínas SERCA está codificada por tres genes diferentes: SERCA1, es una isoforma específica del músculo esquelético que se expresa predominantemente en los músculos de contracción rápida, siendo 1a y 1b formas adultas y neonatales respectivamente; SERCA2, la isoforma SERCA2a se expresa principalmente en músculo esquelético de contracción lenta y músculo cardíaco, mientras que SERCA2b es una isoforma ubicua que aparece en todos los tipos de células en una abundancia baja; y SERCA3, se expresa en células neuronales y células epiteliales a un nivel muy bajo (Periasamy y Kalyanasundaram, 2007; Periasamy *et al.* 2017).

La función principal de SERCA1 en el músculo esquelético es ser regulador de la homeostasis del Ca²⁺ celular. Utilizando energía derivada de la hidrólisis de ATP transporta el Ca²⁺ del sarcoplasma de regreso al lumen del RS produciendo la relajación muscular y la recuperación del Ca²⁺ del RS a los niveles necesarios para los ciclos posteriores del acoplamiento excitación-contracción. Aproximadamente el 90% del aumento de Ca²⁺ durante una sola contracción se elimina del sarcoplasma a través de las bombas SERCA (Michelucci *et al.* 2021; Xu y Van Remmen, 2021; Bolaños *et al.* 2022).

Los factores que regulan su expresión y función incluyen: Ca²⁺, pH, hormonas tiroideas, proteínas fosfolambán y sarcolipina (Bolaños *et al.* 2022).

4.4.5 Intercambiador Na⁺/Ca²⁺

El intercambiador Na⁺/Ca²⁺ (NCX) pertenece a la superfamilia de antiportadores de cationes Ca²⁺, cuya función es controlar el intercambio de un ion Ca²⁺ por cada tres iones Na⁺ a través de la membrana plasmática. La dirección de este intercambio puede ser directa (salida de Ca²⁺ y entrada de Na⁺) o inversa (entrada de Ca²⁺ y salida de Na⁺) dependiendo del gradiente electroquímico a través de la membrana (Valentim *et al.* 2022).

El NCX se requiere en el músculo esquelético para actuar como un modulador del contenido del RS y también, participa en el desarrollo del músculo esquelético. Se ha propuesto que su principal papel es la extrusión de Ca²⁺ durante la relajación muscular y se ha observado que está más involucrado en la regulación del Ca²⁺ durante las contracciones musculares repetidas cuando el Ca²⁺ es muy alto (Rincón *et al.* 2021; Valentim *et al.* 2022).

En el músculo esquelético se expresan dos isoformas de NCX: NCX1 y NCX3, siendo NCX3 la isoforma predominante (Brini y Carafoli, 2011). Se ha sugerido que NCX es más importante en el músculo de contracción lenta, ya que se contrae cuando se elimina el Na⁺ externo, un efecto ausente en el músculo de contracción rápida, por lo tanto, se podría observar un efecto más evidente en dicho tipo de fibra (Bolaños *et al.* 2022).

4.4.6 Mitocondrias en el mecanismo del acoplamiento excitación contracción del músculo esquelético

Las mitocondrias son denominadas “la central eléctrica de la célula” y “el centro de señalización de Ca²⁺ celular” debido a que estos orgánulos de doble membrana son importantes reguladores de la homeostasis del Ca²⁺ celular, la señalización, el metabolismo y la producción de energía en forma de ATP (Szabadkai y Duchon, 2008; Anderson *et al.* 2019).

En el músculo esquelético, las mitocondrias ocupan el 10-15 % del volumen de las fibras y se localizan principalmente en la periferia en grupos subsarcolémicos o entre miofibrillas en gran parte dentro de las bandas I, que rodean la red del RS. Las ataduras (estructuras densas en electrones de 10 nm de largo) anclan la membrana mitocondrial externa a las cisternas terminales del RS (Boncompagni *et al.* 2020; Bolaños *et al.* 2021) lo que facilita una comunicación bidireccional entre el RS y las mitocondrias para que la afluencia de Ca^{2+} en la matriz mitocondrial active la síntesis de ATP y el metabolismo (Rossi *et al.* 2009).

La entrada de Ca^{2+} desde el sarcoplasma al espacio intermembrana mitocondrial (EIM) ocurre a través de los canales de aniones dependientes de voltaje (VDAC) localizados en la membrana mitocondrial externa. Desde el EIM hasta la matriz mitocondrial, el Ca^{2+} pasa por canales insertados en la membrana mitocondrial interna: el complejo MCU, el modo rápido (RaM) y el mRyR1 (Kirichok *et al.* 2004; Shoshan-Barmatz y De, 2017; Bolaños *et al.* 2021). Mientras que la liberación de Ca^{2+} de la mitocondria está bajo el control del intercambiador mitocondrial $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (mNCX), el antiportador $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ (mNCH) y el poro de transición de permeabilidad mitocondrial (mPTP) (Li *et al.* 2020; Bernardi *et al.* 2021; Garbincius y Elrod, 2022).

4.5 Estrés oxidante

El estrés oxidante es el desequilibrio entre la producción de ERO y la capacidad de los tejidos para neutralizar a las ERO, lo que conduce a una acumulación de moléculas oxidadas. Las principales enzimas antioxidantes que controlan el equilibrio redox en las células son la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa y la glutatión peroxidasa (Breitenbach y Eckl, 2015).

Las ERO se generan en el músculo esquelético activo y la efectividad de la contracción muscular es altamente dependiente del incremento moderado en los niveles de ERO, incluso un incremento muy modesto en la generación de estos compuestos puede optimizar la producción de fuerza máxima. Por el contrario, altas

cantidades de ERO pueden causar daño al músculo esquelético, contribuir al proceso de fatiga y perjudicar su recuperación. Se ha demostrado que existe una relación dosis y tiempo dependiente entre la concentración de ERO y la reducción de la contractibilidad muscular y la ocurrencia de fatiga (Fernández *et al.* 2009).

También, las ERO elevadas pueden promover la atrofia acelerada de las fibras del músculo esquelético, ya que distintos desencadenantes atroficos están vinculados a las ERO, tal es el caso de la activación del sistema ubiquitina-proteasoma y la señalización suprimida de la vía IGF1-Akt-mTORC1, que disminuye la síntesis de proteínas. También, las ERO pueden promover la fuga de Ca^{2+} del RS al oxidar a proteínas importantes encargadas de controlar la homeostasis de Ca^{2+} en el acoplamiento excitación-contracción (Reiken *et al.* 2003; Woos *et al.* 2021).

4.6 Homeostasis del Ca^{2+} alterada en el acoplamiento excitación-contracción del músculo esquelético

La regulación en la señalización del Ca^{2+} y la producción de ERO es un requisito previo fundamental para el correcto funcionamiento del músculo esquelético. En múltiples condiciones patológicas en el músculo se ha relacionado a la desregulación de la homeostasis del Ca^{2+} y el aumento del estrés oxidativo como dos de los principales mecanismos que inducen una fuerza muscular reducida, pérdida de masa muscular y aumento del daño muscular (Qaisar *et al.* 2018; Lemmer *et al.* 2021; Michieluchi *et al.* 2021).

El aumento de Ca^{2+} en la fibra muscular se acumula en las mitocondrias, lo que puede activar la producción excesiva de ERO mitocondriales que dañan a las proteínas de la cadena de transporte de electrones y el ADN mitocondrial. También, se desencadena la apertura descontrolada del mPTP, la pérdida del potencial de membrana ($\Delta\Psi_m$), lo que afecta la producción de ATP y finalmente conduce a la apoptosis celular. Estos mecanismos conducen a la disfunción mitocondrial, que

está relacionada con la disfunción del músculo esquelético (ver Fig. 5) (Li *et al.* 2020; Wood *et al.* 2021; Bernardi *et al.* 2021; Bolaños *et al.* 2022).

EL Ca^{2+} excesivo en la fibra muscular resulta de un desequilibrio en las tasas de liberación y recaptación de Ca^{2+} en el RS. Se ha propuesto que la función alterada de RyR1, SERCA1 y NCX tienen un papel principal en la desregulación del Ca^{2+} en las fisiopatologías musculares (Periasamy y Kalyanasundaram, 2007; Agrawal *et al.* 2018; Lemmer *et al.* 2021).

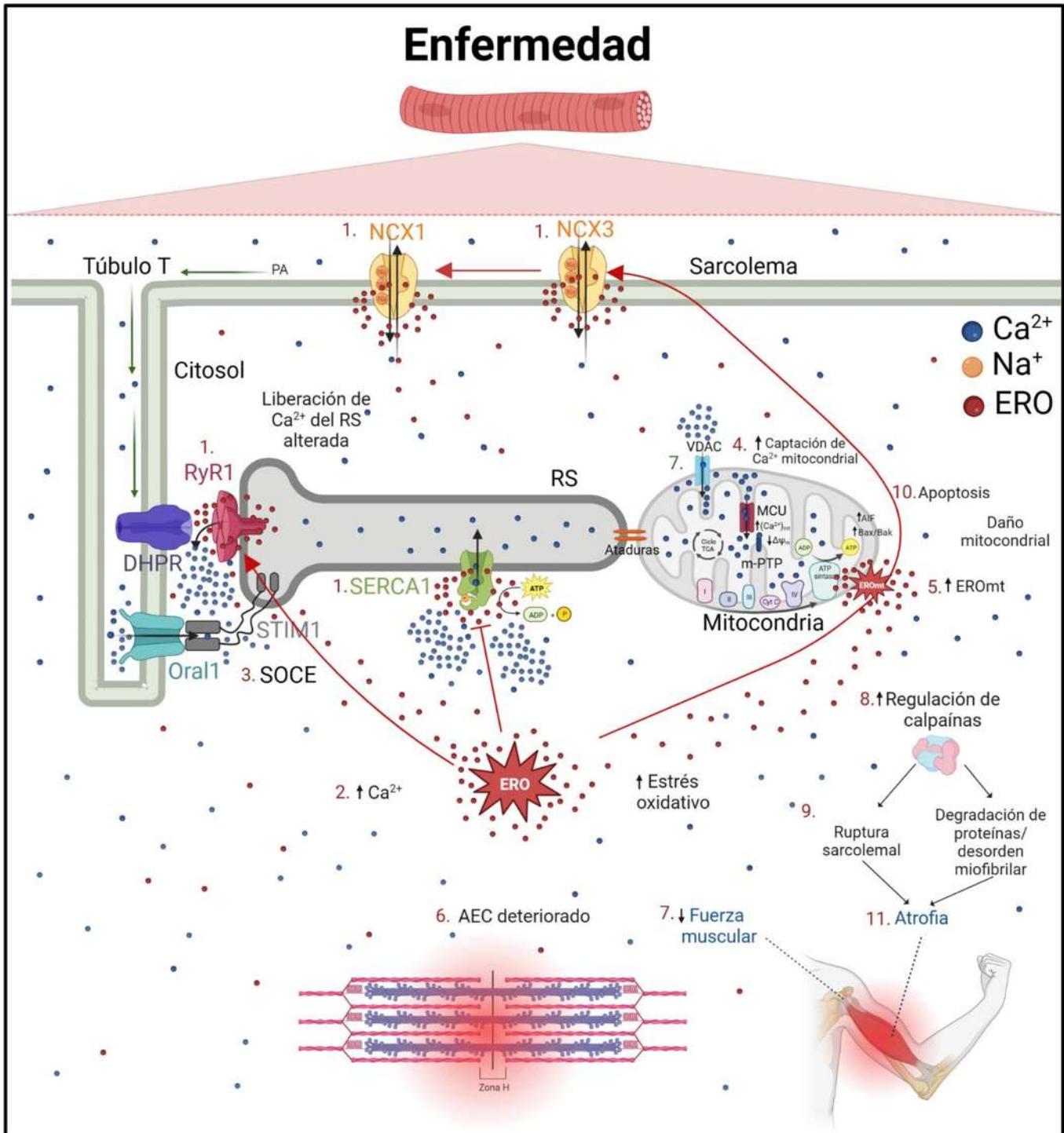


Fig. 5. Mecanismos moleculares propuestos para la señalización alterada del Ca²⁺ y el aumento del estrés oxidante para el daño en la fibra muscular en pacientes enfermos. En estados patológicos, un estrés oxidante alto, (1) conduce a la oxidación de RyR1, SERCA1 y NCX lo que resulta en una actividad alterada, (2) lo cual aumenta la concentración de Ca²⁺ en el sarcoplasma (3) en consecuencia se activa la entrada de Ca²⁺ a través de SOCE dependiente de STIM1/Orai1 como resultado del agotamiento del RS. 4) También el Ca²⁺ citosólico alto ocasiona la

captación mitocondrial de Ca^{2+} a través de MCU, **(5)** que aumenta la actividad de la cadena de transporte de electrones y la producción excesiva de mtERO hacia el citosol que provocan oxidación adicional de RyR1, SERCA1 y NCX **(6)** que es perjudicial para el AEC, **(7)** lo que se traduce en pérdida de la producción de fuerza muscular. Además, la acumulación de Ca^{2+} en el sarcoplasma junto con el aumento del estrés oxidativo, desencadena una serie de vías de señalización intracelular, entre ellas **(8)** la activación de calpaínas, **(9)** la reducción de la síntesis de proteínas y el aumento de la degradación de proteínas que conducen a: desorden miofibrilar, ruptura del sarcolema, alteraciones estructurales y daño mitocondrial. **(10)** Estas alteraciones, junto con el aumento de la apoptosis, desencadenada por la sobrecarga mitocondrial de Ca^{2+} a través de la activación de la vía Bax/Bak/AIF **(11)** conducen a la atrofia muscular (Michelucci *et al.* 2021). RYR1, receptor de rianodina 1. SERCA1, ATPasa de Ca^{+2} . NCX, intercambiador sodio calcio. RS, retículo sarcoplásmico. AEC, acoplamiento excitación contracción. Elaborada por Martínez, 2023; BioRender.com.

4.6.1 Alteraciones en RyR1

Los RyR1 son muy susceptibles a las modificaciones redox debido a la presencia de residuos hiperactivos de cisteína y serina. Distintos estudios han encontrado que la remodelación de RyR1 afecta la señalización del Ca^{2+} y la función del músculo esquelético (Reiken *et al.* 2003 ; Bellinger *et al.* 2008). La remodelación del complejo RyR1 podría ser de varios tipos, incluida la fosforilación mediada por PKA, la nitrosilación de RyR1, el agotamiento de PDE4D3, FKBP12 y calstabin1, también, la carbonilación y la glutationilación (Reiken *et al.* 2003; Agrawal *et al.* 2018; Denniss *et al.* 2018).

El estrés oxidativo activa vías de señalización intracelular que afectan la función de RyR1 provocando fuga de Ca^{2+} del RS. El aumento en la concentración de Ca^{2+} sarcoplásmico activa numerosos mecanismos de daño celular dependientes de Ca^{2+} que perjudican el AEC del músculo esquelético (Santulli *et al.* 2018; Lemmer *et al.* 2021). También, el aumento patológico del Ca^{2+} sarcoplásmico conduce a la sobrecarga del Ca^{2+} mitocondrial y la producción incontrolada de ERO

que oxida aún más a RyR1 en un ciclo destructivo de fuga de Ca^{2+} y producción exacerbada de ERO (Michelucchi *et al.* 2021).

4.6.2 Alteraciones en SERCA1

El estrés oxidativo excesivo provoca la oxidación irreversible de los residuos de cisteína en SERCA1 lo que reduce su actividad. En el músculo esquelético, los residuos de cisteína median la regulación de la actividad de SERCA por oxidación reversible a través de la glutatiónilación inducida por el peroxinitrito, lo que da como resultado un aumento de la actividad de SERCA (Dremina *et al.* 2007; Qaisar *et al.* 2019; Qaisar *et al.* 2021).

Se ha demostrado que el aumento del estrés oxidante conduce a una reducción de la actividad de SERCA lo cual inactiva su función ocasionando un incremento del Ca^{2+} sarcoplásmico y posteriormente, disminuye la liberación de Ca^{2+} después de cada estímulo. La interrupción del AEC por la inhibición de SERCA compromete las funciones musculares, por ejemplo, la disminución de la generación de fuerza, el tiempo prolongado para alcanzar la fuerza máxima con el aumento de la mitad del tiempo de relajación, además de contribuir a la atrofia tanto en humanos como en animales (Agrawal *et al.* 2018; Qaisar *et al.* 2018; Qaisar *et al.* 2019; Xu y Van Remmen, 2021; Qaisar *et al.* 2021).

4.6.3 Alteraciones en NCX

En el músculo esquelético la ausencia de NCX da lugar a anomalías electromiográficas y necrosis muscular (Michel *et al.* 2017). NCX3 tiene un papel clave en condiciones patológicas y de estrés (Michel *et al.* 2015). En la patogenia de la distrofia muscular de Duchenne (DMD), se observa una desregulación de la homeostasis del Ca^{2+} atribuida a una mejora de la entrada de Ca^{2+} operada por almacenamiento (SOCE) que desencadena una regulación positiva de NCX3 (Zhao

et al. 2012; Michel *et al.* 2015). También, en un modelo genético de IC inducida por hiperactividad simpática se observó debilidad muscular en paralelo de la disminución de la expresión de NCX en los músculos sóleo y plantaris (Bueno *et al.* 2010).

4.7 Fatiga muscular

La fatiga muscular es cualquier disminución en la capacidad para generar fuerza o potencia máxima independientemente de que pueda ser mantenida o no la intensidad del esfuerzo (López-Chicharro y Fernández-Vaquero, 2006). La fatiga puede producirse en cualquiera de los puntos implicados en la contracción muscular, desde el encéfalo hasta las células musculares y, también, en el sistema cardiovascular y respiratorio (Koeppen y Stanton, 2009).

La alteración de alguno o varios de los procesos que intervienen desde que se origina la orden motora a nivel cortical hasta que el estímulo llega al sarcolema se llama fatiga central. Y si la alteración se produce por modificaciones en el funcionamiento del sarcolema o de cualquiera de los procesos que acontecen en el interior de las fibras musculares entonces la fatiga se clasifica como periférica (López-Chicharro y Fernández-Vaquero, 2006). La fatiga implica cambios en la fuerza isométrica, la velocidad máxima de acortamiento y la curvatura de la relación fuerza-velocidad. Estos tres factores tienen diferentes mecanismos subyacentes y todos afectan la potencia de los músculos fatigados (Allen *et al.* 2008).

Algunas de las causas importantes para la aparición de fatiga son: el aumento de fosfato inorgánico (Pi) que disminuye la capacidad para generar fuerza y perjudica el manejo del Ca^{2+} en el RS, la acumulación de lactato intracelular e iones de hidrógeno que causan una función deteriorada de las proteínas contráctiles, los cambios iónicos en el potencial de acción para liberar acetilcolina suficiente, la liberación inadecuada de Ca^{2+} del RS por diversos mecanismos, los cambios iónicos asociados con la bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPasa, la disminución de fosfocreatina, el

oxígeno insuficiente, la disminución del glucógeno y otros nutrientes, los aumentos transitorios de ADP y los efectos de las ERO. Sorprendentemente los niveles de ATP del músculo fatigado a menudo no son mucho más bajos que los del músculo en reposo (Duke y Steele 2000; Lamb, 2002; Tupling, 2004; Tortora y Derrickson, 2006; Allen *et al.* 2008; Koeppen y Stanton, 2009; Calderón-Vélez y Figueroa-Gordon, 2009; Calderón *et al.* 2014).

4.8 Alteraciones del músculo esquelético en la insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada

La ICFEp no es una simple enfermedad de relajación cardíaca inadecuada, la nueva evidencia respalda que los principales factores de riesgo de ICFEp también contribuyen a las deficiencias en la fisiología del músculo esquelético. Además, la miopatía específica del músculo esquelético se ha definido como una de las principales causas de intolerancia al ejercicio en la ICFEp (Adams *et al.* 2017; Paneroni *et al.* 2018). Las alteraciones en el músculo esquelético son controladas por una variedad de mecanismos que incluyen resistencia a la insulina, inflamación, disfunción mitocondrial, lipotoxicidad y alteración en el estado rédox (Adams *et al.* 2017; Wood *et al.* 2021).

Investigaciones recientes han proporcionado información sobre las alteraciones funcionales y estructurales presentes en el músculo esquelético tanto de pacientes como de modelos animales con ICFEp, las cuales incluyen: disminución de fibras de tipo 1, se ha planteado la hipótesis de que una reducción en el porcentaje de fibras musculares esqueléticas tipo I podría contribuir a la disminución de la capacidad oxidativa en el músculo y a la fatiga temprana (Paneroni *et al.* 2018; Farris *et al.* 2017); infiltración adiposa, la función muscular puede verse alterada por el aumento del tejido adiposo a través de múltiples vías, incluida la inducción de una respuesta proinflamatoria, la resistencia a la insulina y las alteraciones del suministro de oxígeno (Farris *et al.* 2017); disfunción

mitocondrial, se ha demostrado una capacidad oxidativa mitocondrial alterada, reducción de la densidad mitocondrial y un desorden de las proteínas mitocondriales (Molina *et al.* 2016); atrofia de fibras, la atrofia muscular en la ICfEp está impulsada principalmente por el sistema ubiquitina-proteasoma, la autofagia y la señalización mediada por miostatina (Hajouli y Ludhwani, 2020); metabolismo alterado, un agotamiento temprano, así como con un retraso en la recuperación de la fosfocreatina en el músculo esquelético durante y después del ejercicio (Weiss *et al.* 2017) lo que afecta y disminuye la síntesis de ATP en la ICfEp (Wolsk *et al.* 2019; Saw *et al.* 2021); disminución de enzimas antioxidantes, lo que puede sugerir un papel del estrés oxidativo en el deterioro del músculo esquelético (Bowen *et al.* 2018; Kelley *et al.* 2022); densidad capilar reducida y disminución en la extracción periférica de oxígeno (Bowen *et al.* 2018; Zamani *et al.* 2020 Saw *et al.* 2021).

En conjunto, todos estos mecanismos juegan un papel en la disfunción del músculo esquelético en la ICfEp al contribuir al deterioro de la fuerza muscular y la fatiga temprana (Farris *et al.* 2017; Adams *et al.* 2017).

A pesar de los conocimientos hasta ahora descritos sobre las alteraciones a nivel de músculo esquelético en la ICfEp, aún existe una disponibilidad limitada de estudios que caracterice la función del músculo esquelético en la ICfEp (Araiza-Garaygordobil *et al.* 2019). En distintas condiciones patológicas se ha reportado que el manejo de Ca^{2+} deficiente, la producción disfuncional de ERO y las alteraciones estructurales/funcionales de las proteínas encargadas de la liberación y recaptura de Ca^{2+} en el sarcolema, el túbulo T y el retículo sarcoplásmico tienen un papel principal en la pérdida de masa muscular, la reducción de la contractilidad muscular y el aumento del daño muscular (Michelucci *et al.* 2021). Sin embargo, hasta ahora, ningún estudio ha explorado la relación de la ICfEp con las alteraciones del manejo del Ca^{2+} y el estrés oxidante en la ICfEp como posible mecanismo para la disfunción del músculo esquelético.

4.9 Efecto del ejercicio de intensidad moderada en la ICfEp

En la actualidad no existe un tratamiento efectivo que mejore los resultados en la ICfEp, probablemente debido a una comprensión incompleta de este síndrome heterogéneo. Anteriormente la ICfEp era considerada contraindicación absoluta o relativa para el ejercicio físico debido a la incapacidad de esfuerzos físicos en esta entidad, sin embargo, evidencias recientes han revelado que el entrenamiento físico es una intervención terapéutica para tratar la ICfEp debido a que ha demostrado mejorar los resultados en pacientes con ICfEp al mejorar la función cardíaca, la VO_{2pico} (medida del volumen de oxígeno que el cuerpo puede utilizar durante el esfuerzo físico), la capacidad de ejercicio y la calidad de vida (Kitzman et al. 2010; Edelmann et al. 2011; Dieberg et al. 2015; Saw et al. 2021). Sin embargo, su efecto sobre la función del músculo esquelético es poco conocida, por eso, comprender los mecanismos por los cuales el entrenamiento físico puede alterar la función del músculo esquelético podría apuntar hacia el desarrollo de terapias en la ICfEp (Farris et al. 2017).

Los beneficios de la actividad física incluyen la reducción de la adiposidad, el aumento de la aptitud cardiorrespiratoria ($VO_{2máx}$), la reducción de los niveles de lípidos circulantes y el mantenimiento de la masa muscular. También, se ha demostrado que durante el ejercicio se liberan miocinas en el músculo esquelético que se contrae que modifican positivamente los procesos metabólicos en otros órganos (Whitham y Febbraio, 2017; Febbraio et al. 2017).

El ejercicio de intensidad moderada ($VO_{2máx}$ 40-60%) es una alternativa segura para las personas con ICfEp, ya que integra actividades aeróbicas ligeras y moderadas (caminata a paso ligero, trotar en una cinta rodante, nadar tranquilamente) que ejercita las extremidades superiores e inferiores y promueve el fortalecimiento. Se ha demostrado que el ejercicio aeróbico de intensidad moderada reduce los factores de riesgo asociados con la ICfEp, por ejemplo, ha demostrado retrasar el desarrollo de la hipertensión y reducir la presión arterial de manera efectiva (Alpsoy, 2020); aumenta la absorción de glucosa y mejora la sensibilidad a

la insulina a través de un mayor metabolismo de las reservas de ácidos grasos en el músculo esquelético (Mul *et al.* 2015; McGarrah *et al.* 2016); previene el aumento de peso y promueve la pérdida de peso (Celik y Yildiz, 2021).

Además, la adaptación del músculo esquelético al ejercicio es controlada por las modificaciones redox. La homeostasis redox "mejorada" incluye: 1) aumento de la expresión génica, contenido de proteínas y actividad de las enzimas antioxidantes, 2) niveles más altos en reposo de antioxidantes, 3) niveles más bajos de biomarcadores de estrés oxidativo en reposo, 4) mayor resistencia a las agresiones oxidativas y 5) mecanismos de reparación mejorados para proteínas y ADN modificados oxidativamente (Margaritelis *et al.* 2020). Estas adaptaciones en el músculo esquelético no solo aumentan la tolerancia al ejercicio, sino que también inducen ajustes celulares morfológicos y funcionales que culminan en fibras musculares esqueléticas más fuertes y poderosas (Ferreira *et al.* 2010). A pesar de la evidencia del efecto positivo del entrenamiento físico sobre las propiedades metabólicas y de contracción del músculo esquelético, hasta la fecha no existe algún estudio que muestre el efecto de un protocolo de ejercicio de intensidad moderada sobre el manejo del Ca^{2+} y el estrés oxidante del músculo esquelético en la ICFEp.

5. Justificación

La ICFEp se caracteriza por disminución de la tolerancia al ejercicio y debilidad muscular. La disfunción muscular en esta entidad no se ha caracterizado por completo y se ha propuesto que el aumento del estrés oxidativo y los cambios en el acoplamiento-excitación-contracción (AEC) por modificaciones en la expresión de RyR1, SERCA1 y NCX3, podrían tener un papel principal en la tolerancia al ejercicio y función muscular disminuidas en esta entidad. El ejercicio de intensidad moderada ha demostrado mejorar el estrés oxidante y el manejo de Ca^{2+} en el músculo esquelético que comprenden diferentes composiciones de fibras. Sin embargo, los efectos positivos asociados con el ejercicio aeróbico sobre el músculo esquelético en la ICFEp siguen sin ser claros

6. Hipótesis

El ejercicio de intensidad moderada mejora la fuerza de contracción muscular, el estrés oxidante y la expresión de RyR1, SERCA1 y NCX3 en el músculo esquelético de ratones con ICFEp.

7. Objetivos

7.1 Objetivo general

Evaluar el efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre la fuerza de contracción, el estrés oxidante y la expresión de RyR1, SERCA1 y NCX3 en el músculo esquelético de ratones con ICFEp.

7.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre la fuerza de contracción muscular y el tiempo de resistencia a la fatiga en el músculo esquelético de ratones con ICFEp.
- Evaluar el efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre el estrés oxidante en el músculo esquelético de ratones con ICFEp.
- Evaluar el efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre la expresión de RyR1, SERCA1 y NCX3 en el músculo esquelético de ratones con ICFEp.

8. Materiales y métodos

8.1 Aprobación ética

Los protocolos con animales fueron aprobados por el Comité de Bioética y Seguridad del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la UMSNH y fueron realizados siguiendo las recomendaciones de la norma Oficial Mexicana 062-ZOO-1999 sobre las especificaciones técnicas para el cuidado y uso de los animales de laboratorio.

8. 2 Modelo de ratón para el estudio de la insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada

Se indujo ICFEp en ratones macho adultos de la cepa C57BL/6J de 5 semanas de edad y con un peso de 15-19 g; mediante la administración de dieta alta en grasa (60% lípidos) y L-NAME (0.05 g/L) en el agua de beber, como se describió anteriormente por Schiattarella *et al.* (2019). Todos los experimentos se realizaron

después de 8 semanas de tratamiento. Los ratones control de la misma edad se mantuvieron en condiciones similares, pero recibieron dieta estándar y agua potable *ad libitum*.

8.3 Grupos experimentales:

- **Control Sedentario (C):** Dieta estándar y agua potable *ad libitum*.
- **Ejercitado (E):** Dieta estándar y agua potable *ad libitum*, más ejercicio de intensidad moderada.
- **Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada (ICFep) sedentario:** Dieta alta en grasa (60% lípidos) y L-NAME (0.5 g/L) en el agua de bebida *ad libitum*.
- **ICFepE ejercitados:** Dieta alta en grasa (60% lípidos) y L-NAME (0.5 g/L) en el agua de bebida *ad libitum*, más ejercicio de intensidad moderada (ver Fig. 6).

Los animales fueron mantenidos en un ciclo de luz/oscuridad de 12 h /12 h. Al final de los tratamientos se midieron los niveles de glucosa en ayunas con un glucómetro comercial (Accu-Check Performa[®]) y el peso en una báscula.

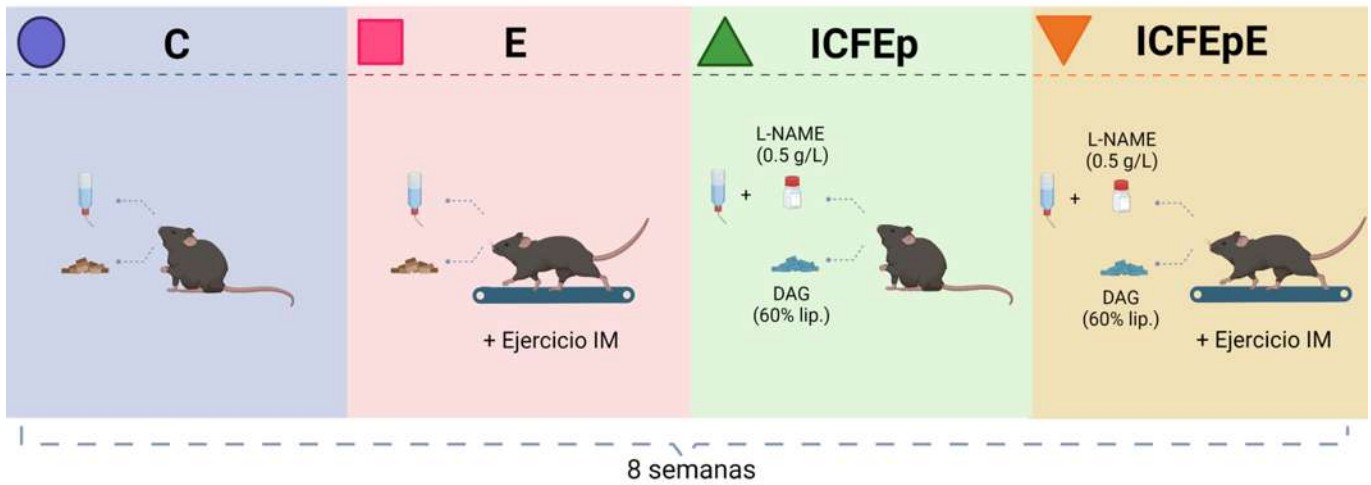


Fig. 6. Grupos experimentales. IM, intensidad moderada. DAG, dieta al en grasas. L-NAME, N ω -Nitro-L-arginine methyl ester. Elaborada por Martínez, 2023; Biorender.com.

8.4 Protocolo de ejercicio de intensidad moderada

Para el protocolo de ejercicio, los ratones fueron acondicionados a una velocidad de 0.5 km/h durante 4 min por 4 días con una pendiente de 0° en una cinta de correr especial. Después se aplicó el protocolo de ejercicio de intensidad moderada el cual se definió como el 70% de la capacidad máxima de carrera en ratones anteriormente reportada, con algunas modificaciones (Martinez-Huenchullan *et al.* 2018). El ejercicio se realizó a una velocidad de 1 km/h durante 16 min, 4 veces por semana por un período de 4 semanas (Fig. 7).



Fig. 7. Protocolo de ejercicio de intensidad moderada. Elaborada por Martínez, 2023; BioRender.com.

8.5 Prueba de agotamiento por ejercicio

La capacidad de ejercicio, estimada por la distancia total corrida, se correlaciona con la capacidad de trabajo del músculo esquelético, y es un método utilizado para detectar la intolerancia al ejercicio en la IC (Bueno *et al.* 2010). Durante 3 días se aclimató a los grupos sedentarios al ejercicio en cinta rodante (4 min a 0.5 km/h). Los animales corrieron en la cinta comenzando a una velocidad de calentamiento de 1 km/h durante 4 min. Cada 2 min posteriores, la velocidad se incrementó en 0.1 km/h hasta que el animal se agotó. El agotamiento se definió como la incapacidad del animal para volver a correr dentro de los 10 s de contacto directo con una rejilla que induce estímulos con aire (Fig. 8). Se midió el tiempo (s) de carrera y se calculó la distancia de carrera, a través de la fórmula: $d = v.t$.

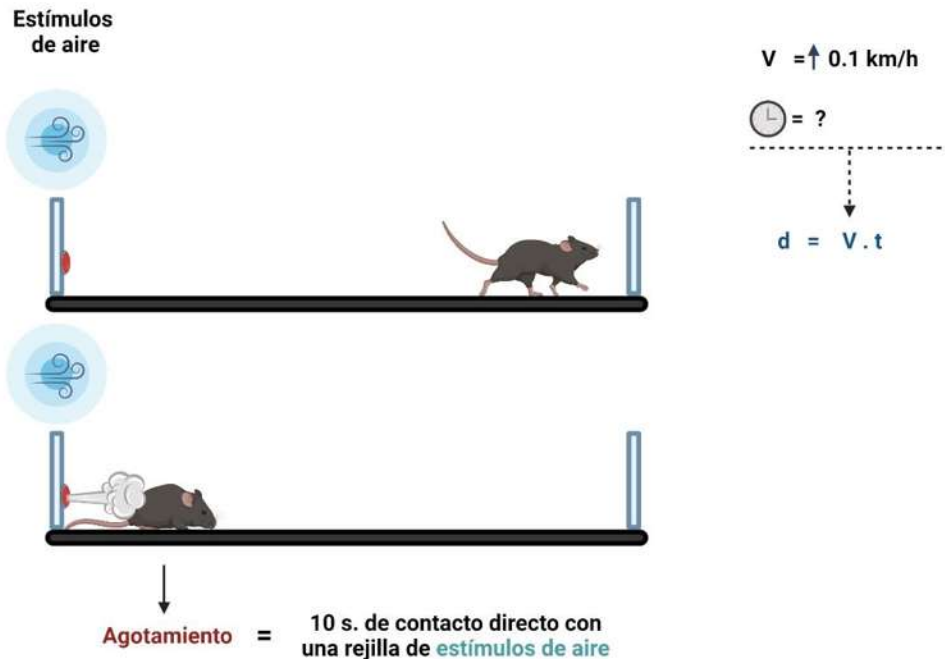


Fig. 8 Prueba de agotamiento por ejercicio. Elaborada por Martínez, 2023; Biorender.com.

8.6 Eutanasia y disección muscular

Una vez terminados los tratamientos, los ratones se sacrificaron por dislocación cervical, y fueron extraídos y pesados, el corazón y los pulmones como indicadores de hipertrofia cardíaca y congestión pulmonar respectivamente. Después, se diseccionó el músculo sóleo de las dos extremidades posteriores.

El músculo sóleo diseccionado de la primera extremidad trasera se conservó en RNA later y fue llevado a $-4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 h, para posteriormente ser almacenado a $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ para las pruebas de qPCR.

El músculo sóleo diseccionado de la segunda extremidad trasera se colocó y fijó con alfileres entomológicos en una caja de Petri revestida con fondo de resina transparente, esta fue previamente llenada con la solución fisiológica, formulada para ratón (148 mM NaCl, 4.5 mM KCl, 2 mM CaCl_2 , 1 mM MgCl_2 , 0.44 mM NaH_2PO_4 ; pH 7.4) con la adición de 5.5 mM de glucosa y 12 mM NaHCO_3 . Se

suministró gas carbógeno (95 % de O₂ y 5 % CO₂) constante (Gómez-Barroso *et al.* 2020). Con la ayuda de un microscopio estereoscópico se efectuó la limpieza del músculo sóleo para retirar el excedente de tejido conectivo y de tejido graso adherido al músculo al realizar la disección, para finalmente obtener el registro de tensión muscular *in vitro*.

8.7 Registro de tensión isométrica *in vitro*

En una cámara de registro de tensión isométrica el músculo sóleo fue montado a través de sus tendones, uno de los tendones se sujetó a un transductor óptico (Word precisión Instruments, USA) y el segundo tendón se sujetó al fondo de la cámara; una vez montado el músculo se ajustó la tensión a 30% de su longitud en reposo, en todo momento el músculo estuvo inmerso en solución fisiológica con flujo continuo y suplementación constante con gas carbógeno. Dentro de la cámara de registro, se colocaron dos electrodos de platino-iridio directamente dentro de la solución, donde se encontraba sumergido el músculo, pero sin hacer contacto directo con el músculo; los cuales se conectaron a una unidad aisladora de estímulos (Grass, USA) para la estimulación de inducción de fatiga, iniciada 10 min después de la colocación del músculo. A su vez, el transductor se conectó a un amplificador y a una interfaz analógico digital (Word Precision Instruments, USA) (ver Fig. 9) lo que permitió adquirir la tensión generada por cada músculo en una computadora, mediante el software MDAC (Word precisión Instruments, USA) (ver Fig. 9).

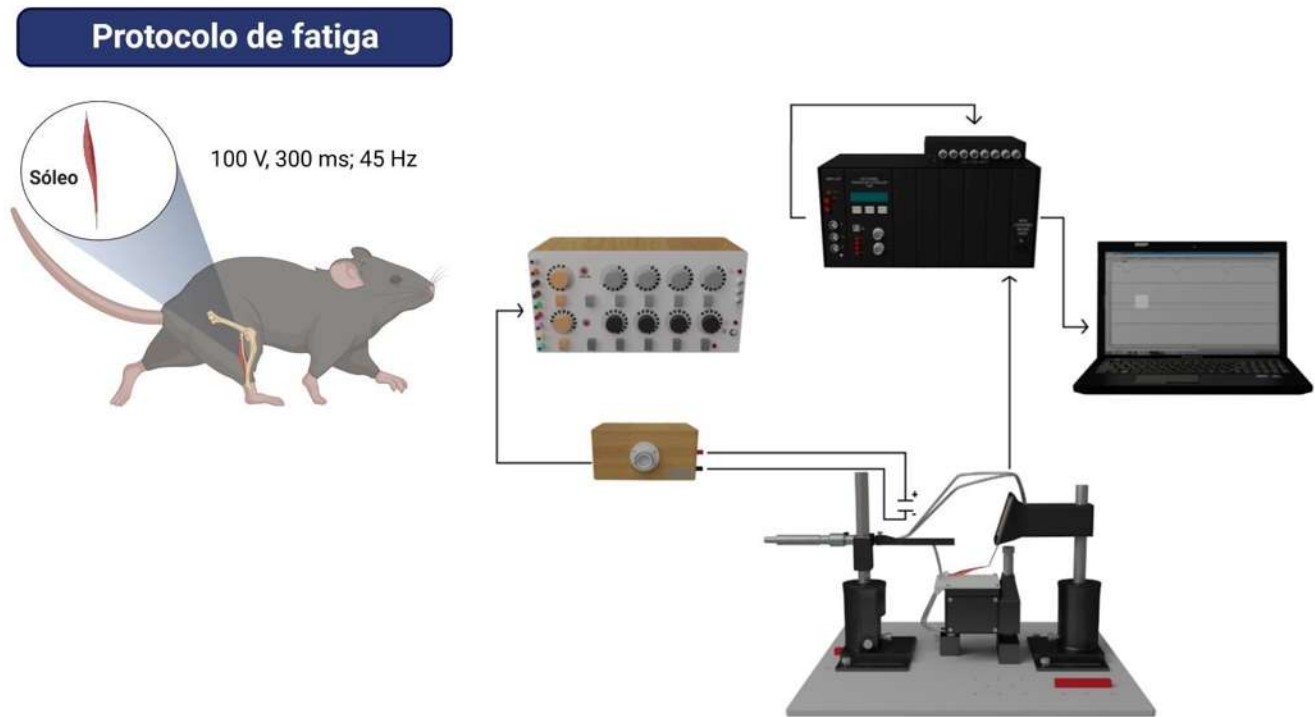


Fig. 9. Registro de tensión in vitro. Montaje del músculo sóleo para el registro de tensión isométrica. Transductor óptico (Word precisión Instruments, USA); electrodos de platino-iridio conectados a una unidad aisladora de estímulos (Grass, USA); amplificador e interfaz analógico digital (Word Precision Instruments, USA). Elaborada por Martínez, 2023; Blender y Biorender.com.

8.8 Protocolo de inducción de la fatiga

La fatiga del músculo sóleo fue inducida mediante estimulación eléctrica repetitiva. Esta se aplicó con pulsos de 100 V con 300 ms de duración y una frecuencia de 45 Hz mediante la unidad aisladora de estímulos. El músculo se estimuló hasta que la tensión disminuyó un 60-70 %, aproximadamente respecto a la tensión inicial y se midió el tiempo en el que se llegó a la fatiga muscular.

8.9 Medición del estrés oxidante

8.9.1 Determinación de la Producción de Especies Reactivas de Oxígeno

La presencia de ERO se determinó empleando la sonda de fluorescencia 2',7' diclorodihidrofluoresceína diacetato (H₂DCFDA). Se resuspendió 0.025 mg/mL de proteína de homogeneizados de tejido muscular en 5 µL de diclorofluoresceína y se completó con Buffer de ERO (HEPES 10 mM, KCl 100 mM, MgCl₂ 3mM y KH₂PO₄ 3 mM; pH 7,4) (Gómez-Barroso *et al.* 2022) para un volumen total de 2000 µL, posteriormente, se incubaron en frío con agitación durante 15 min. La fluorescencia basal se registró después de atemperarse, por último, las muestras se llevaron a agitación por 60 min para registrar la fluorescencia final. Los cambios en la fluorescencia se midieron a longitudes de onda de excitación/emisión de 485 nm/520 nm en un espectrofluorofotómetro Shimadzu RF-5301PC (Shimadzu, Kyoto, Japón). Los datos se expresaron como unidades arbitrarias (UA) por mg de proteína.

8.9.2 Actividad de la catalasa

La actividad de la catalasa se analizó midiendo la conversión del H₂O₂ en O₂ con un electrodo de oxígeno tipo Clark conectado a un monitor de oxígeno biológico (5300A Biological Oxygen Monitor, YSI, Ohio, USA). Se resuspendió 0.025 mg/ml de proteína de homogeneizados de músculo sóleo, en un buffer de fosfato 0,1 M (pH 7,4) a 25 °C y se monitoreo durante 1 min. Luego se añadió H₂O₂ 6 mM a la cámara, y la conversión de H₂O₂ en O₂ se midió con el electrodo de oxígeno durante 3 min. La producción de O₂ se registró continuamente y la actividad catalítica se expresó en µmol de O₂ producido por minuto. Cada medición se realizó tres veces y el resultado correspondió al valor medio de la pendiente de la curva utilizada para

cuantificar la actividad de la catalasa de la muestra. Los resultados obtenidos se expresaron como μmol de O_2 */mg de proteína.

8.9.3 Determinación de los niveles de glutatión

Los niveles de glutatión presentes en el músculo sóleo se determinaron mediante el método de Rahman *et al.* (2006) (Fig. 10). El contenido de glutatión total (GSH + GSSG) se determinó en 0.025 mg/mL de proteína. Se realizó desprotonación de las muestras con solución liberadora (ácido sulfosalicílico al 0,6 % y Triton X-100 al 0,1 % en un buffer de fosfato de potasio 0,1 M (pH 7,5)). Esta mezcla se sonicó tres veces durante 3 s y se colocó en hielo durante 3 s entre cada ciclo de sonicación, seguido de dos ciclos de congelación/descongelación, y se centrifugó a 10,000 rpm durante 5 min. Luego, el sobrenadante se mezcló con un buffer de fosfato de potasio, con 0,1 unidades/mL de glutatión reductasa y 100 μM de 5,5-ditiobis (ácido 2-nitrobenzoico) (DTNB). La reacción se inició añadiendo β -NADPH 50 μM y se evaluó durante 5 min a 412 nm en un espectrofotómetro UV/vis (Shimadzu UV-2550, Kyoto, Japón). El incremento de la absorbancia a 412 nm fue convertida a concentración de GSH+GSSG usando el coeficiente de extinción molar para el glutatión. Para las determinaciones del glutatión oxidado (GSSG), las muestras se incubaron durante 1 h a temperatura ambiente con 4-vinilpiridina al 0,2 % para derivatizar el glutatión reducido (GSH). Luego, las muestras se trataron como se describió anteriormente para las determinaciones de GSH+GSSG. La concentración de glutatión reducido (GSH) se calculó restando la concentración de GSSG de la concentración de GSH+GSSG.

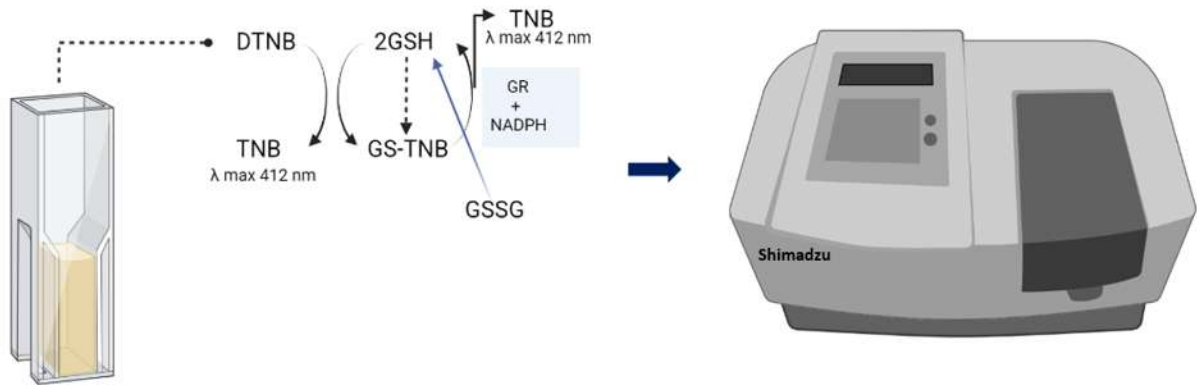


Fig. 10. El reciclaje enzimático de glutatión reducido (GSH) a partir de glutatión oxidado (GSSG) por la glutatión reductasa (GR) en presencia de NADPH. GSH reacciona con DTNB (5,5'-ditio-bis (ácido 2-nitrobenzoico)) para formar TNB (ácido 5-tio-2-nitrobenzoico) y GS-TNB (aducto de glutatión de GSH). Luego, GS-TNB se reduce a GSH similar a GSSG por GR y NADPH (reciclado). El TNB formado se puede cuantificar a 412 nm. Imagen modificada de Rahman *et al.* 2006, Elaborada por Martínez, 2023; Biorender.

8.10 Análisis de la expresión génica de las proteínas RyR1, SERCA1 y NCX3 por RT-qPCR

El ARN se aisló del tejido muscular congelado utilizando el método de TRIzol (Invitrogen Life Technologies, Grand Island, USA), y se utilizó 0.5 µg para sintetizar el ADN complementario (ADNc) mediante el kit de reactivos de transcripción inversa (ImProm-II, Promega, Madison, USA). El análisis de expresión de los genes se realizó mediante qPCR con el termociclador MXP3000 (Aligent, Santa Clara, USA) utilizando Sensi Fast SYBR Lo-ROx Mix (Bioline, Londres, Reino Unido) 1 × 100 ng de ADNc y 300 nM de cebadores. Antes de la amplificación, el ADNc se desnaturalizó a 95 °C durante 3 min, y luego se realizó la amplificación con 40 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 20 s, hibridación a 60 °C durante 15 s, extensión a 72 °C durante 15 s, seguido de una extensión adicional a 72 °C durante 20 s. Se verificaron los productos de amplificación analizando la curva de

disociación de cada muestra. La expresión relativa se midió mediante $2^{-\Delta\Delta CT}$, utilizando β -actina como gen endógeno (ver Fig. 11).

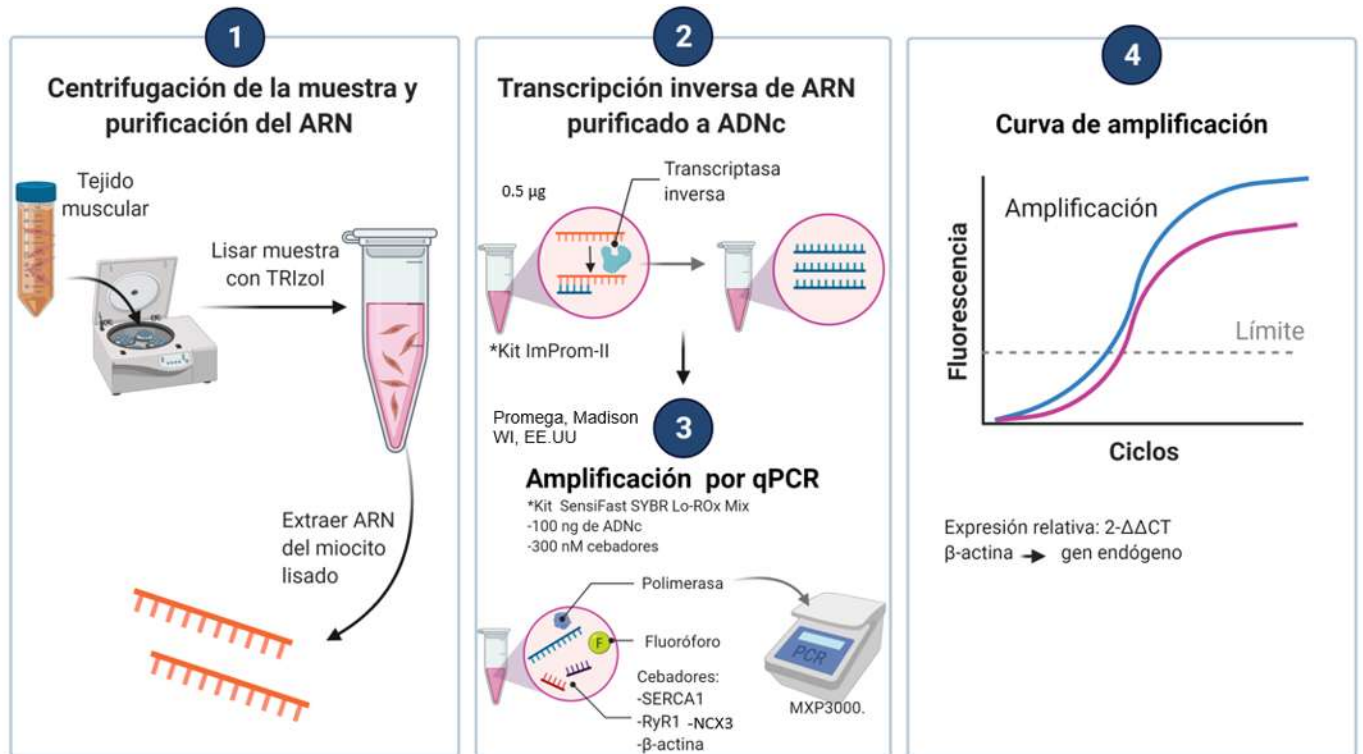


Fig.11. Diagrama que muestra los pasos de la RT-qPCR. 1. Aislamiento de ARN del músculo sóleo. 2. Obtención de ADNc: proporciona la plantilla para la amplificación. 3. Cebadores específicos de secuencia se unen y forman la base de nuevas copias de la región objetivo; la polimerasa incorpora bases complementarias en los nuevos amplicones; sonda o fluoróforo: permite la detección de la amplificación del objetivo; buffer, optimiza las condiciones de reacción. 4. Método que compara el valor Ct de un gen objetivo con otro (usando la fórmula: $2\Delta\Delta CT$). RT-qPCR, reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa cuantitativa. ADNc, ADN complementario. RYR1, receptor de rianodina 1. SERCA1, ATPasa de Ca^{+2} del retículo sarcoplásmico. NCX, intercambiador sodio calcio. Imagen modificada de Biorender.com. Elaborada por Martínez, 2023.

8.11 Análisis estadísticos

Los resultados obtenidos fueron analizados con un análisis de varianza (ANOVA) de 1 vía con prueba *post-hoc* de Tukey. Las diferencias estadísticamente significativas se definieron como $P < 0.05$.

9. Resultados

9.1 Efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre la ganancia de peso corporal en un modelo de ratón con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada

Al final de las 8 semanas con los tratamientos, se observó una mayor ganancia de peso corporal en el grupo de ICFEp (16 ± 0.98 g, $p < 0.0001$) en comparación con el grupo C (7.66 ± 0.35 g) y el grupo E (6.58 ± 0.51 g). Particularmente, el ejercicio de intensidad moderada mostró una disminución significativa en la ganancia de peso en el grupo con ICFEpE (10.08 ± 0.66 g, $p < 0.0001$) en comparación con el grupo de ICFEp sedentario.

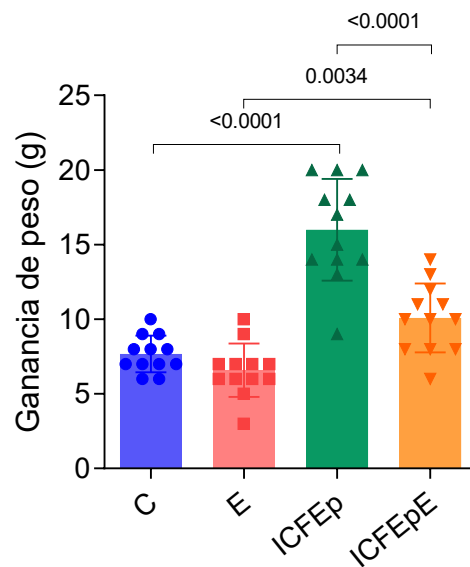


Fig. 12. Ganancia de peso corporal en los distintos grupos experimentales. C = Control. E = Ejercitado. ICFEp = Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada. ICFEpE = Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada + ejercicio. Los datos se presentan como la media \pm error estándar de $n=12$ ($P < 0.05$, ANOVA de 1 vía con prueba *post-hoc* de Tukey).

9.2 Efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre los niveles de glucosa en un modelo de ratón con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada

Con respecto a los niveles de glucosa en sangre en ayuno, se observó un aumento significativo en el grupo de ICFEp (135 ± 4.83 mg/dl, $p < 0.0001$) con respecto al C (88.1 ± 4.56 mg/dl) y el grupo E (83.3 ± 3.65 mg/dl). Por otro lado, el ejercicio no ejerció ningún cambio significativo sobre los niveles de glucosa en los ratones ICFEpE (120.5 ± 2.74 mg/dl) respecto al grupo de ICFEp sedentario.

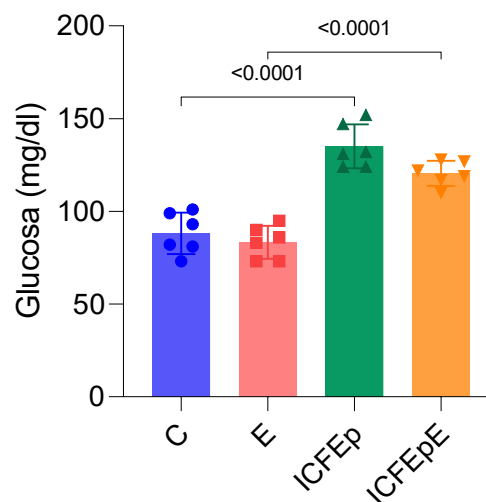


Fig. 13. Glucosa en ayuno en los distintos grupos experimentales. C = Control. E = Ejercitado. ICFEp = Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada. ICFEpE = Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada + Ejercicio. Los datos se presentan como la media \pm error estándar de $n=6$ ($P < 0.05$, ANOVA de 1 vía con prueba *post-hoc* de Tukey).

9.3 Efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre la hipertrofia cardíaca en un modelo de ratón con ICFEp

9.3.1 Peso del músculo cardíaco

Respecto al peso del corazón normalizado a la longitud de la tibia, se observó un aumento significativo en el peso del corazón en el grupo de ICFEp (12.6 ± 0.48

mg/mm, $p < 0.0001$) respecto al grupo C (7.6 ± 0.21 mg/mm). En cuanto al ejercicio, en el grupo E (7.3 ± 0.28 mg/mm), no se observaron cambios significativos en el peso del corazón, mientras que el ejercicio previno el aumento de peso del corazón como lo muestra el grupo ICFEpE (9.1 ± 0.31 mg/mm, $p < 0.0001$) en comparación con el grupo de ICFEp sedentario.

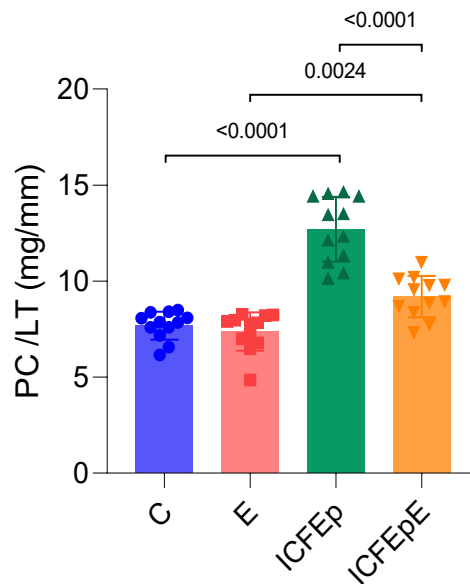


Fig. 14. Peso del corazón en los distintos grupos experimentales. C = Control. E = Ejercitado. ICFEp = Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada. ICFEpE = Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada - Ejercitado. Los datos se presentan como la media \pm error estándar de $n=12$ ($P < 0.05$, ANOVA de 1 vía con prueba *post-hoc* de Tukey). PC, peso del corazón; LT, longitud de la tibia.

9.4 Efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre la congestión pulmonar en un modelo de ratón con ICFEp

9.4.1 Peso pulmonar

El peso de los pulmones normalizado a la longitud de la tibia aumentó en el grupo de ICFEp (10.59 ± 0.41 mg/mm, $p < 0.0018$) con respecto al grupo C (8.82 ± 0.30

mg/mm). Por otro lado, el ejercicio no tiene algún efecto sobre el peso de los pulmones de los grupos E (8.84 ± 0.25 mg/mm) e ICFEpE (10.06 ± 0.28 mg/mm).

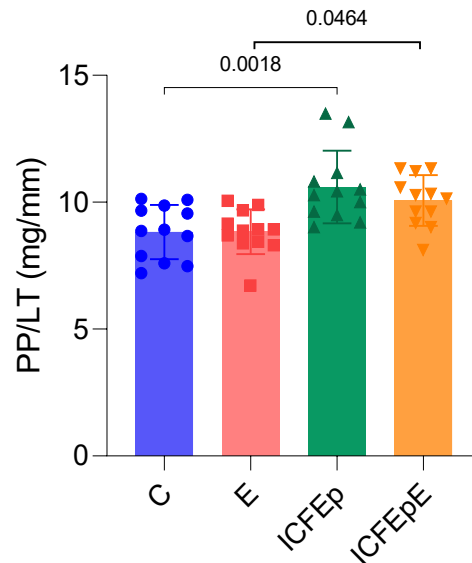


Fig. 15. Peso pulmonar en los distintos grupos experimentales. C = Control. E = Ejercitado. ICFEp = Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada. ICFEpE = Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada - Ejercitado. Los datos se presentan como la media \pm error estándar de $n=12$ ($P<0.05$, ANOVA de 1 vía con prueba post-hoc de Tukey). PP, peso del pulmón; LT, longitud de la tibia.

9.5 Efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre la prueba de distancia de carrera en un modelo de ratón con ICFEp

La distancia de carrera en el grupo de ICFEp (125.68 ± 32.27 m) tendió a disminuir de una manera no significativa respecto al grupo control (189.59 ± 21.76 m) después de realizar la prueba de agotamiento por ejercicio. El ejercicio mejoró la tolerancia al ejercicio en los grupos ejercitados, al observarse aumento significativo en la distancia de carrera en el grupo ejercitado (554.60 ± 56.11 m, $p<0.0001$) y el grupo de ICFEpE (401.79 ± 39.89 m, $p<0.0017$).

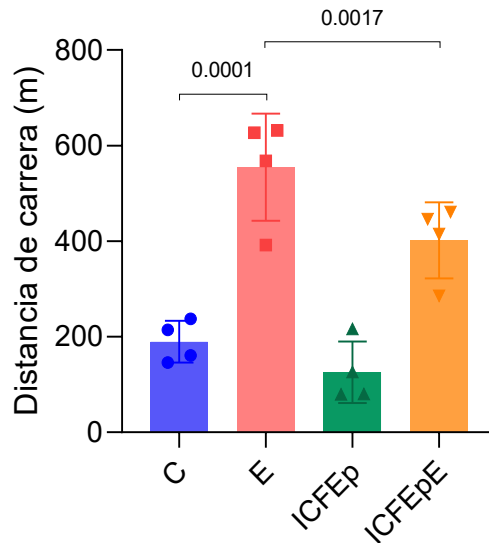


Fig. 16. Distancia de carrera en los distintos grupos experimentales. C = Control. E = Ejercitado. ICFEp = Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada. ICFEpE = Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada - Ejercitado. Los datos se presentan como la media \pm error estándar de $n=4$ ($P<0.05$, ANOVA de 1 vía con prueba *post-hoc* de Tukey).

9.6 Efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre la fuerza de contracción del músculo sóleo en un modelo de ratón con ICFEp

El músculo sóleo presentó un decremento significativo en la fuerza de contracción muscular sobre la tensión máxima en el grupo de ICFEp (105.29 ± 9.66 g, $p<0.0001$) con respecto al C (182.63 ± 6.79 g). Por otro lado, con el ejercicio, el grupo E (237.58 ± 8.99 g, $p<0.0069$) mostró un aumento significativo en la tensión máxima en comparación con el grupo C, mientras que el grupo de ICFEpE (151.22 ± 9.92 g, $p<0.0304$) también demostró un aumento significativo en la tensión máxima a comparación con el grupo ICFEp sedentario.

En cuanto a la tensión total, el músculo sóleo mostró un decremento significativo en el grupo con ICFEp (190.86 ± 15.37 g, $p<0.0001$) con respecto al control (296.41 ± 10.06 g). Mientras que el ejercicio parece tener una acción favorable para el mantenimiento de la contracción muscular sobre la tensión total,

tanto en el grupo ejercitado (374.25 ± 11.57 g, $p < 0.0001$), como en el grupo con ICFEpE (246.97 ± 14.86 g, $p < 0.0057$) respecto al grupo ICFEp sedentario.

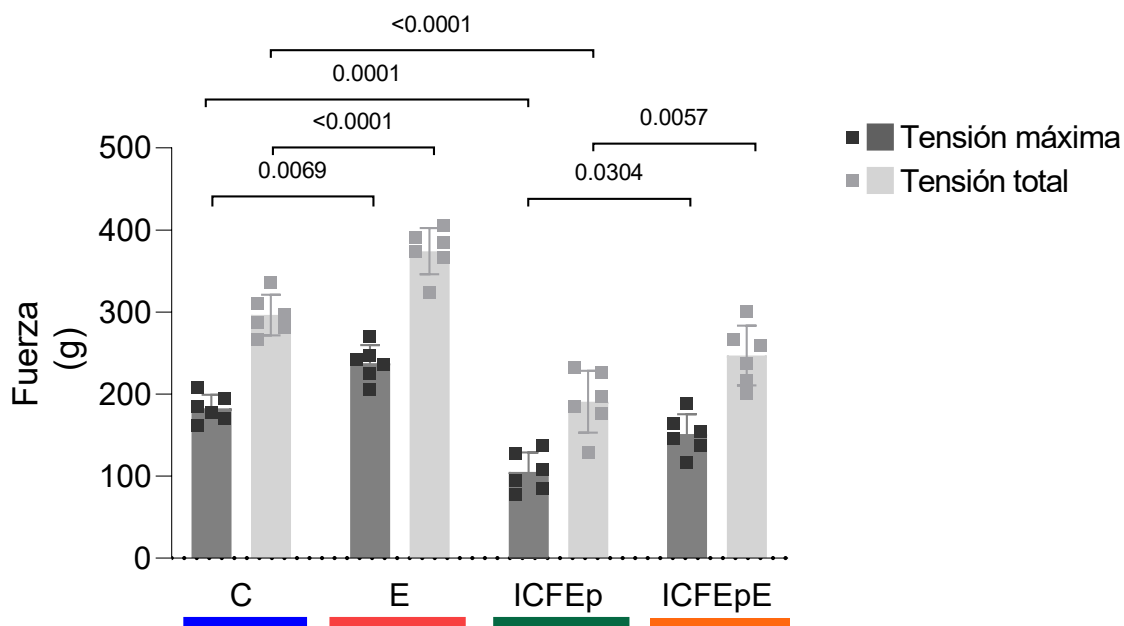


Fig. 17. Tensión máxima y tensión total del músculo sóleo. C = Control. E = Ejercitado. ICFEp = Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada. ICFEpE = Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada - Ejercitado. Los datos se presentan como la media \pm error estándar de $n=6$ ($P < 0.05$, ANOVA de 1 vía con prueba *post-hoc* de Tukey).

9.7 Efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre el tiempo de resistencia a la fatiga del músculo sóleo en un modelo de ratón con ICFEp

La ICFEp disminuyó el tiempo de resistencia a la fatiga en el músculo sóleo a comparación con el grupo C (315.66 ± 17.52 s, $p < 0.0001$ vs. 599.83 ± 28.29 s respectivamente). Por otro lado, el musculo sóleo presentó una resistencia a la fatiga mayor en los grupos ejercitados; en el grupo E (801.33 ± 28.53 s, $p < 0.0001$) el ejercicio logró mejorar este parámetro respecto al C, y también en el grupo ICFEpE (459.5 ± 20.40 s, $p < 0.0023$) en comparación con el grupo ICFEp sedentario.

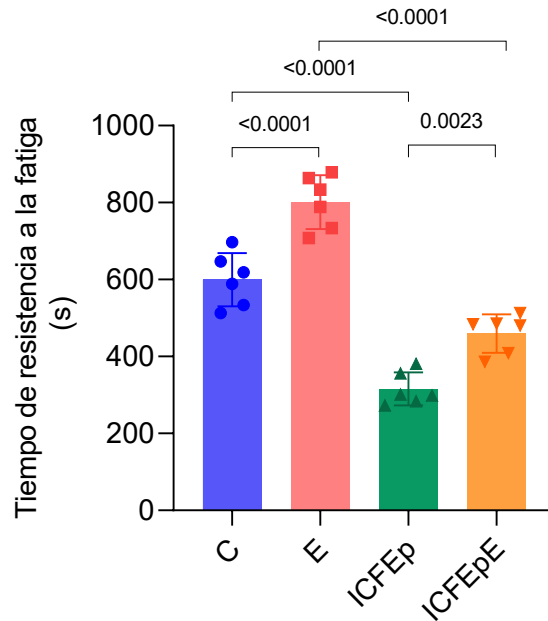


Fig. 18. Tiempo de resistencia a la fatiga del músculo sóleo. C = Control. E = Ejercitado. ICFEp = Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada. ICFEpE = Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada - Ejercitado. Los datos se presentan como la media \pm error estándar de $n=6$ ($P < 0.05$, ANOVA de 1 vía con prueba post-hoc de Tukey).

9.8 Efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre marcadores de estrés oxidativo del músculo sóleo en un modelo de ratón con ICFEp

9.8.1 Niveles de Especies Reactivas de Oxígeno en el músculo sóleo

Los niveles de ERO en el músculo sóleo fueron significativamente menores en el grupo C que en el grupo ICFEp (1.92 ± 0.16 UA, $p < 0.0001$ vs 6.13 ± 0.3 UA, respectivamente). Hubo disminución significativa en los niveles de ERO en el grupo ICFEpE (3.40 ± 0.23 UA, $p < 0.0001$) en comparación con el grupo ICFEp sedentario. Mientras que los niveles de ERO aumentaron de manera moderada en el grupo E (3.49 ± 0.25 UA, $p < 0.0013$) respecto al C.

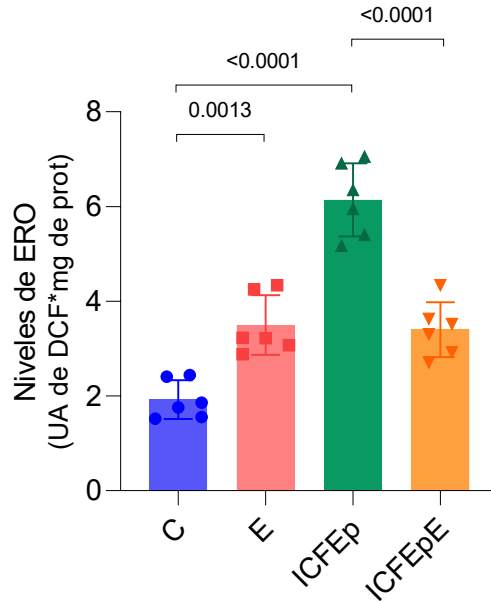


Fig. 19. Especies reactivas de oxígeno en el músculo sóleo. C = Control. E = Ejercitado. ICFEP = Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada. ICFEP-E = Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada - Ejercitado. N=6. Los datos se presentan como la media \pm error estándar de n=6 ($P<0.05$, ANOVA de 1 vía con prueba post-hoc de Tukey). UA, unidades arbitrarias. DCF, diclorofluorocéina.

9.8.2 Actividad de catalasa en el músculo sóleo

La actividad de la catalasa en el músculo sóleo aumentó en el grupo ICFEP ($3.49 \pm 0.12 \mu\text{M de O}^2/\text{mg prot}$, $p<0.0001$) en comparación con el grupo C ($2.11 \pm 0.16 \mu\text{M de O}^2/\text{mg prot}$). Se observaron también aumentos significativos en el grupo E ($3.08 \pm 0.17 \mu\text{M de O}^2/\text{mg prot}$, $p<0.0024$) en comparación con el C. Se detectó un incremento significativo en la actividad de catalasa del grupo ICFEP-E ($4.36 \pm 0.19 \mu\text{M de O}^2/\text{mg prot}$, $p<0.0065$) con respecto al grupo de ICFEP sedentario ($3.49 \pm 0.12 \mu\text{M de O}^2/\text{mg prot}$).

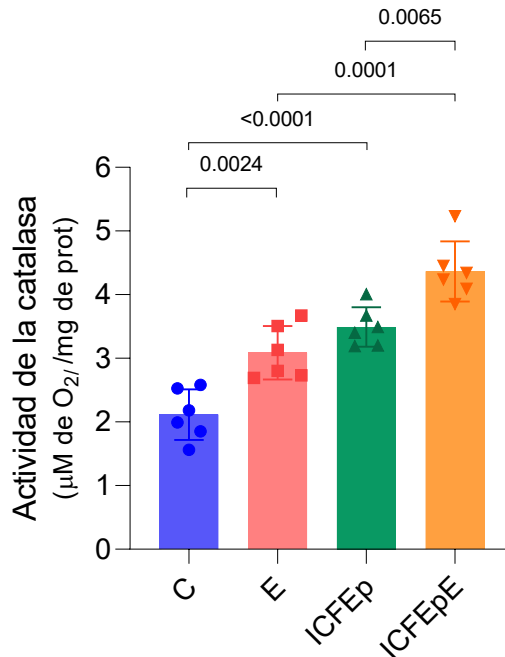


Fig. 20. Actividad de la catalasa en el músculo sóleo. **C** = Control. **E** = Ejercitado. **ICFEp** = Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada. **ICFEpE** = Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada - Ejercitado. Los datos se presentan como la media \pm error estándar de $n=6$ ($P<0.05$, ANOVA de 1 vía con prueba post-hoc de Tukey).

9.8.3 Niveles de glutatión en el músculo sóleo

No se observaron diferencias significativas en los niveles de glutatión total entre los grupos C ($0.66 \pm 0.07 \mu\text{M}/\text{mg prot}$), E ($0.66 \pm 0.05 \mu\text{M}/\text{mg prot}$), ICFEp ($0.76 \pm 0.04 \mu\text{M}/\text{mg prot}$), ICFEpE ($0.74 \pm 0.05 \mu\text{M}/\text{mg prot}$). En cuanto a los niveles de glutatión reducido tampoco se observaron cambios significativos entre los grupos C ($0.38 \pm 0.08 \mu\text{M}/\text{mg prot}$), E ($0.40 \pm 0.06 \mu\text{M}/\text{mg prot}$), ICFEp ($0.32 \pm 0.05 \mu\text{M}/\text{mg prot}$), ICFEpE ($0.35 \pm 0.06 \mu\text{M}/\text{mg prot}$). En contraste, los niveles de glutatión oxidado se incrementaron en los grupos ICFEp ($0.43 \pm 0.02 \mu\text{M}/\text{mg prot}$, $p < 0.0185$) e ICFEpE ($0.38 \pm 0.02 \mu\text{M}/\text{mg prot}$, $p < 0.0433$) en comparación con los grupos C ($0.28 \pm 0.01 \mu\text{M}/\text{mg prot}$) y E ($0.25 \pm 0.04 \mu\text{M}/\text{mg prot}$). No se observó ningún cambio significativo en el glutatión oxidado entre el grupo de ICFEp sedentario y el grupo ejercitado con ICFEpE. Por otro lado, el cociente GSH/GSSG tendió a disminuir de una manera no

significativa en los grupos ICFEp ($0.77 \pm 0.17 \mu\text{M}/\text{mg prot}$) e ICFEpE ($0.94 \pm 0.20 \mu\text{M}/\text{mg prot}$) respecto a los grupos C ($1.37 \pm 0.39 \mu\text{M}/\text{mg prot}$) y E ($1.74 \pm 0.51 \mu\text{M}/\text{mg prot}$).

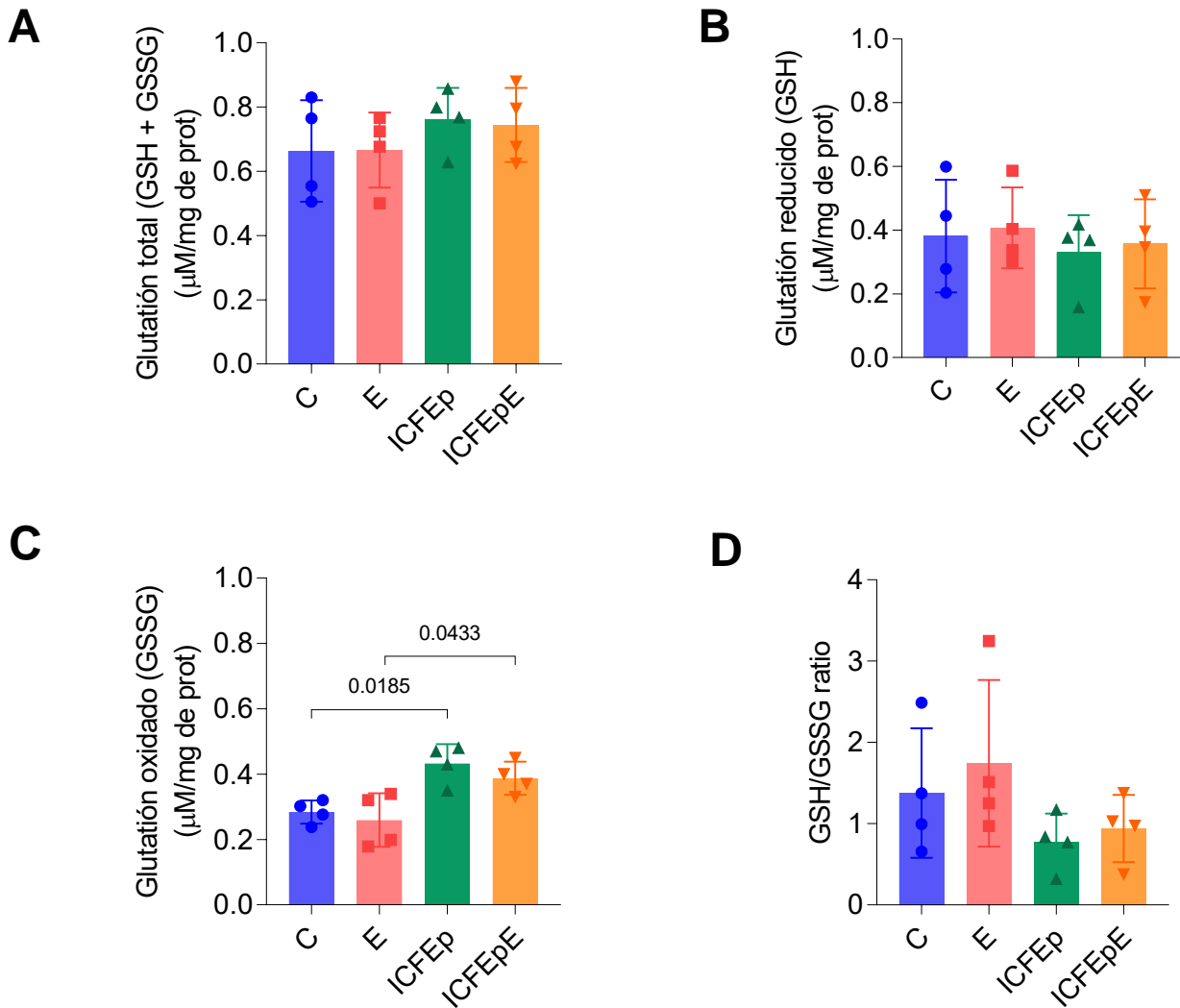
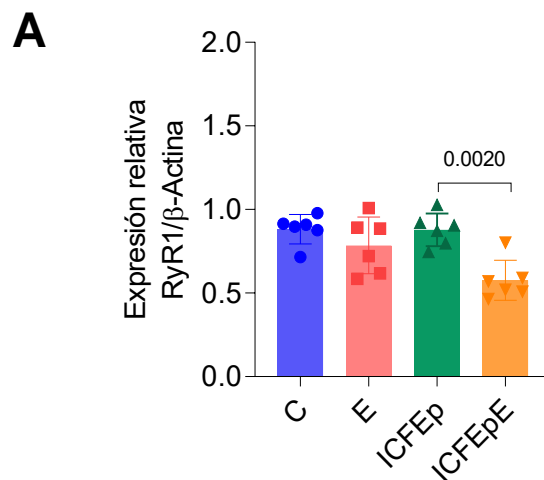


Fig. 21. Niveles de glutatión en el músculo sóleo. Panel A. GSH + GSSG. **Panel B.** GSH. **Panel C.** GSSG. **Panel D.** GSH/GSSG ratio. **C** = Control. **E** = Ejercitado. **ICFEp** = Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada. **ICFEpE** = Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada - Ejercitado. Los datos se presentan como la media \pm error estándar de $n=4$ ($P<0.05$,

ANOVA de 1 vía con prueba post-hoc de Tukey). GSH + GSSG, glutatión total. GSH, glutatión reducido. GSSH, glutatión oxidado. Cociente GSH/GSSG.

9.9 Efecto del ejercicio de intensidad moderada sobre la expresión génica de RyR1, SERCA1 y NCX3 en el músculo sóleo en un modelo de ratón con ICFEp

No se observaron cambios significativos en los niveles de expresión de RYR1 en el músculo sóleo del grupo ICFEp (0.87 ± 0.04) respecto a los grupos C (0.88 ± 0.03) y E (0.78 ± 0.06). Hubo una disminución en la expresión de RYR1 en el grupo ICFEpE (0.57 ± 0.04 , $p < 0.0020$). La expresión de SERCA1 disminuyó significativamente en el músculo sóleo de los grupos ICFEp (0.60 ± 0.07 , $p < 0.0017$) e ICFEpE (0.57 ± 0.07 , $p < 0.0030$) respecto al C (1.15 ± 0.07). Por otro lado, el ejercicio de intensidad moderada de 4 semanas no mostró ningún efecto en los grupos ejercitados E (1.09 ± 0.12). La expresión de NCX3 en el músculo sóleo disminuyó en el grupo ICFEp (0.68 ± 0.04 , $p < 0.0113$) y en el grupo ICFEpE (0.55 ± 0.02 , $p < 0.0004$) con respecto al C (1.01 ± 0.05). El ejercicio de intensidad moderada de 4 semanas no mostró algún efecto sobre la expresión de los grupos ejercitados E (1.01 ± 0.10), ni restablecer la expresión en la ICFEpE.



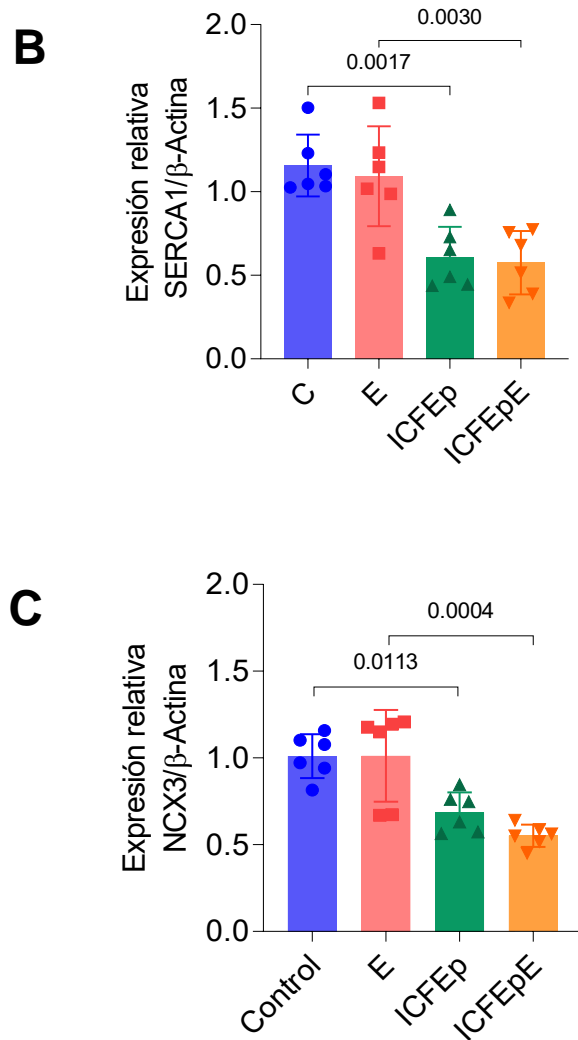


Fig. 22. Expresión de proteínas involucradas en la liberación (RYR1) y recepción de Ca^{2+} (SERCA1, NCX3) del músculo sóleo. Panel A. RyR1. Panel B. SERCA1. Panel C. NCX3. C = Control. E = Ejercitado. ICFEP = Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada. ICFEPe = Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada - Ejercitado. Los datos se presentan como la media \pm error estándar de $n=6$ ($P<0.05$, ANOVA de 1 vía con prueba post-hoc de Tukey). RyR1, receptor de rianodina 1. SERCA1, ATPasa de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico. NCX3, intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$

10. Discusión

La ICFEp presenta una fisiopatología heterogénea y compleja. Actualmente, siguen surgiendo nuevos conceptos y clasificaciones en el estudio de este síndrome (Gevaert *et al.* 2022). Evidencia reciente indica que la disfunción del músculo esquelético desempeña un papel fisiopatológico en la ICFEp. La miopatía específica del músculo esquelético se ha definido como una de las principales causas de intolerancia al ejercicio en la ICFEp, el cual es un síntoma clave predictor de mortalidad en estos pacientes. Por lo tanto, la mejora de la capacidad funcional es un objetivo importante de investigación (Kittleson *et al.* 2023). Las deficiencias en el metabolismo del músculo esquelético influyen profundamente en la tolerancia al ejercicio, debido a que el músculo esquelético activo es responsable de la mayoría del oxígeno consumido en el ejercicio. A pesar de los conocimientos hasta ahora descritos, la disfunción del músculo esquelético en individuos con ICFEp no se ha caracterizado por completo debido a la disponibilidad limitada de estudios (Paneroni *et al.* 2018; Saw *et al.* 2021; Kittleson *et al.* 2023).

La regulación en la señalización de Ca^{2+} y la producción de ERO es un requisito previo fundamental para el correcto funcionamiento del músculo esquelético. En distintas condiciones patológicas musculares la desregulación de la homeostasis del Ca^{2+} y el estrés oxidativo contribuyen a la pérdida de la función muscular (Ferreira *et al.* 2010; Michel *et al.* 2018; Saw *et al.* 2021). En esta investigación se propuso que los cambios en los niveles de la expresión de genes que mantienen la homeostasis del Ca^{2+} y el aumento del estrés oxidativo en la fibra muscular pueden tener un papel principal en la miopatía del músculo esquelético en la ICFEp.

Además, el entrenamiento con ejercicios aeróbicos de intensidad moderada es una terapia adyuvante para la ICFEp, con un impacto positivo tanto en los músculos cardíacos como en los esqueléticos. Sin embargo, se sabe muy poco sobre el mecanismo celular subyacente por el cual el entrenamiento físico mejora la contractilidad del músculo esquelético y la tolerancia al ejercicio en la ICFEp (Crisci

et al. 2022; Edwards *et al.* 2023). Se ha demostrado que el entrenamiento aeróbico mejora de la función del músculo esquelético y aumenta la liberación del Ca^{2+} sarcoplásmico en humanos sanos (Munkvik *et al.* 2009). También, en ratones de tipo salvaje se demostró que el entrenamiento con ejercicios aeróbicos reorganizó la red de proteínas involucradas en el manejo de Ca^{2+} del músculo esquelético, que culminó en un mayor rendimiento de carrera (Ferreira *et al.* 2010; Bueno *et al.* 2010).

En el presente trabajo, mostramos que el ratón con dieta alta en grasas (DAG) + L-NAME, recapitula distintas características clave de la ICFEp (aumento de peso corporal, glucosa elevada, hipertrofia cardíaca, congestión pulmonar, intolerancia al ejercicio y disfunción muscular). El consumo de una DAG durante 8 semanas indujo obesidad y aumentó los niveles de glucosa en ayuno en el grupo de ICFEp. Esto va acorde con Thomas *et al.* (2014), donde mostraron que con solo 3 semanas de DAG son suficientes para causar aumentos significativos en la masa corporal (debido a grandes ganancias en la masa grasa) y resistencia a la insulina en ratones jóvenes en crecimiento. Además, se sabe que la obesidad inducida por DAG provoca resistencia a la insulina en el músculo esquelético a través de la inflamación crónica y la acumulación de lípidos intramiocelulares (Eshima *et al.* 2021). Por otro lado, el ejercicio mostró disminuir el peso corporal en el grupo con ICFEpE, pero no mostró cambios en los niveles de glucosa en ayuno, sobre esto, está bien establecido que la actividad física reduce el peso corporal y mejora la sensibilidad a la insulina, así como el control glucémico (Dearlove *et al.* 2020). Sin embargo, se ha sugerido que la obesidad no es necesaria para desencadenar resistencia a la insulina, si no que podría estar más relacionada con el contenido y distribución de la grasa, así como el contenido de la masa muscular, no reflejadas en la toma de peso corporal. Esto confirma el papel clave del músculo esquelético en la regulación del metabolismo sistémico de la glucosa (Oliveros *et al.* 2014), lo que podría explicar la nula disminución en la glucosa en ayuno a pesar de la disminución de peso corporal en los ratones con ICFEpE al menos durante las 4 semanas con el ejercicio aeróbico (ver Fig.12 y 13).

Los ratones con ICfEp presentaron hipertrofia cardíaca, la cual se evaluó determinando el aumento del peso cardíaco (Fig. 14). La inhibición de la eNOS (óxido nítrico sintasa endotelial) por L-NAME, la inflamación local y la generación de ERO limita la señalización miocárdica de ON-cGMP-PKG lo que influye en la relajación y rigidez de las miofibras, y al consecuente aumento de la presión de llenado diastólico del VI, esta sobrecarga de presión al miocardio activa cascadas de señalización que están involucradas en el mecanismo hipertrófico (Paulo y Tschöpe, 2013; Schiattarella *et al.* 2019). Por otro lado, el grupo con ICfEpE mostró una reducción significativa en el peso del corazón respecto al grupo con ICfEp sedentario. Distintos estudios han demostrado que el ejercicio aeróbico reduce la presión arterial en animales hipertensos, además, mejora la función cardíaca y la contractilidad de los cardiomiocitos al retrasar el desarrollo de adaptaciones estructurales al inducir un menor estrés crónico en la pared arterial (Teles *et al.* 2022).

El aumento del peso pulmonar es un indicador importante de presencia de congestión pulmonar, sobre este parámetro, observamos un aumento en el grupo con ICfEp (fig. 15), lo cual se puede atribuir a la hipertrofia del corazón en la ICfEp que conduce a presión de llenado del ventrículo izquierdo elevada que precede a hipertensión venosa pulmonar, el cual es el principal mecanismo subyacente en la congestión pulmonar (Pappasa y Filippatosb, 2011). En modelos animales se ha demostrado que la congestión pulmonar se desarrolla cuando la presión auricular izquierda aumenta más allá de un umbral crítico. Además, el desarrollo de la congestión pulmonar en la ICfEp se relaciona con aumentos en las presiones hidrostáticas capilares pulmonares y la hipertensión venosa sistémica que se asocia con deficiencias en el acoplamiento de la arteria pulmonar del ventrículo derecho (Reddy *et al.* 2019). Por otro lado, el ejercicio aeróbico implementado no mostró cambios significativos sobre este parámetro.

También, se realizó una prueba de agotamiento por ejercicio, se determinó el tiempo de carrera, y posteriormente se calculó la distancia de carrera, la cual es un indicador representativo de la capacidad de ejercicio. El grupo de ICfEp mostró

una reducción en la distancia de carrera respecto a los demás grupos, sin embargo, esta no fue significativa (Fig. 16.) Por otro lado, el ejercicio mostró mejorar significativamente la distancia de carrera en los grupos entrenados, en la ICFEpE, esto va acorde con Leggio *et al.* 2022 donde encontraron que el ejercicio de intensidad moderada mejoró significativamente la $VO_{2máx}$, la distancia recorrida y el umbral ventilatorio en pacientes con ICFEp, en comparación a otras modalidades de ejercicio. También esto se podría atribuir a la mejora en la función del músculo esquelético (Tucker *et al.* 2018).

En cuanto a las mediciones de la función del músculo esquelético en este estudio, primero evaluamos la fuerza de contracción del músculo sóleo, donde se observó una disminución significativa sobre la tensión máxima y la tensión total (Fig.17), acompañada de una resistencia a la fatiga disminuida en el grupo de ICFEp (Fig.18). Kelley *et al.* (2022), utilizando un modelo de rata posmenopáusica con ICFEp observaron disfunción contráctil acompañada de disfunción mitocondrial y desequilibrio redox, los cuales podrían contribuir potencialmente al metabolismo anormal y a la intolerancia al ejercicio en la ICFEp. Por otro lado, el ejercicio aeróbico, mostró mejorar la fuerza de contracción, tanto la tensión máxima y la tensión total, así como el tiempo de resistencia a la fatiga en el músculo sóleo en el grupo de ICFEpE. Estos efectos se podrían atribuir a la disminución de la grasa intramuscular, como consecuencia del aumento del metabolismo del músculo esquelético y a los marcadores de estrés oxidativo reducidos (Martínez *et al.* 2018).

En cuanto al estado redox del músculo sóleo, los niveles de ERO en el grupo de ICFEp aumentaron significativamente (Fig. 19), lo que indica que la producción exacerbada de ERO afecta negativamente la contractilidad y contribuye al desarrollo de la fatiga (Allen, 2008; Bouviere *et al.* 2021). Por otro lado, con el ejercicio, en el grupo Ejercitado (E) la contractilidad muscular del sóleo mejora debido al cambio hacia un estado prooxidante más pronunciado. Se sabe que aumentos moderados en las concentraciones de ERO inducidas por la actividad física pueden inducir adaptaciones para mejorar la función del músculo esquelético (Margaritelis *et al.* 2020). Mientras que, en el grupo con ICFEpE, se observaron

reducciones significativas en los niveles de ERO respecto al grupo con ICfEp sedentario; al respecto Powers y Jackson (2008) proponen que la activación de las enzimas antioxidantes por la actividad física contribuye al efecto benéfico del ejercicio. Respecto a esto, en nuestro estudio la actividad de la catalasa en el músculo sóleo aumentó en el grupo de ICfEp (Fig. 20), lo que podría ser un indicador del grado de la ICfEp en el modelo de ratón a las 8 semanas con la dieta alta en grasas + L-NAME, considerando que en una etapa inicial del desarrollo de la ICfEp los sistemas antioxidantes aumentan para contrarrestar el daño patológico y en una etapa crónica de la ICfEp, estas enzimas antioxidantes se encuentran reducidas (Kelley *et al.* 2022). En cuanto al ejercicio, la actividad de la catalasa aumentó en los grupos ejercitados, lo que va acorde con Fiuza-Luces *et al.* (2019) quienes sugieren que el entrenamiento muscular aumenta la producción de enzimas antioxidantes que conducen a la adaptación y la salud beneficiosa. El ejercicio puede modular la vía Nrf2, la cual contrarresta el estrés oxidante en varias condiciones patológicas al aumentar las defensas antioxidantes, inhibir la inflamación y mejorar la función mitocondrial. Nrf2 es liberado de Keap1, después, Nrf2 se acumula en el núcleo, donde activa muchos genes diana antioxidantes, entre ellos la catalasa, y genes diana antiinflamatorios (Kasai *et al.* 2020; Bouviere *et al.* 2021). Respecto a los niveles de glutatión en el músculo sóleo, se observó un aumento significativo en el GSSH en el grupo de ICfEp (Fig. 21), sin cambios significativos en el GSH, el GSH + GSSG y el cociente GSH/GSSG, lo que refleja el estado redox alterado que podría participar en la disfunción contráctil en la ICfEp. Por otro lado, con el ejercicio aeróbico de intensidad moderada de 4 semanas solo se observó una tendencia de aumento en la relación GSH:GSSG en los grupos entrenados a comparación de los grupos sedentarios sin ser estadísticamente significativos, en otros estudios, se ha reportado que el contenido de GSH y la relación GSH:GSSG aumenta con el ejercicio aeróbico, y disminuye el GSSG, sin embargo, el efecto del entrenamiento físico sobre el contenido de GSH es controvertido y se sabe podría variar entre el protocolo de ejercicio, los tejidos y los modelos animales utilizados (Liu *et al.* 2000; Elokda y Nielsen, 2007; Ferreira *et al.*

2010). Lo que podría explicar la discrepancia de los resultados de nuestro estudio con ejercicio aeróbico de intensidad moderada de 4 semanas.

En cuanto a la expresión ARNm de proteínas encargadas de la homeostasis de Ca^{2+} en el músculo sóleo, se sabe que el acoplamiento excitación-contracción (AEC) es el proceso que describe la comunicación entre los eventos eléctricos que ocurren en el sarcolema de las fibras del músculo esquelético y la liberación de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico (RS), lo que inicia la contracción muscular. Sobre esto, RyR1, SERCA1 y NCX3 son las principales proteínas encargadas de controlar la homeostasis de Ca^{2+} en la fibra muscular. RyR1 incrustado en el retículo sarcoplásmico libera Ca^{2+} hacia el citosol lo que inicia la contracción muscular; SERCA1 recaptura el Ca^{2+} de nuevo hacia el RS para la relajación muscular, mientras que NCX3 puede controlar la salida de Ca^{2+} (modo directo) o la entrada de Ca^{2+} (modo inverso) en el sarcolema lo que contribuye a mejorar la actividad muscular (Michelucci *et al.* 2021; Bolaños *et al.* 2022).

Los ratones con ICFEp en esta investigación, mostraron una disminución significativa en la expresión de ARNm de SERCA1 y NCX3, sin cambios en RyR1 (Fig. 21). Estos datos respaldan en parte la hipótesis de que las disminuciones en la expresión de ARNm de genes relacionados con la homeostasis de Ca^{2+} podrían disminuir el manejo de Ca^{2+} en el músculo esquelético y asociarse con debilidad muscular y fatiga en la ICFEp (Bueno *et al.* 2010; Munkvik *et al.* 2010; Eshima, 2021). En tales condiciones, los niveles elevados de ERO pueden inhibir y oxidar a SERCA y NCX, lo que suprime drásticamente la sensibilidad al Ca^{2+} resultando en la pérdida de la respuesta funcional del músculo esquelético (Ferreira *et al.* 2010).

Por otro lado, el ejercicio en el grupo Ejercitado no modificó la expresión de RyR1, SERCA1 y NCX3, lo que es contrastante con otras investigaciones que han demostrado que el ejercicio mejora la expresión del gen, el nivel de proteína y la actividad de RyR1, SERCA o NCX en grupos sanos acompañado de una mejora en la actividad contráctil de los músculos esqueléticos (Ferreira *et al.* 2010; Bueno *et al.* 2010). Respecto al grupo de ICFEpE, el ejercicio mostró disminuir la expresión de ARNm de RyR1, sin cambios significativos en SERCA1 y NCX3, a comparación

del grupo de ICFEp sedentario. Estos datos son contrastantes con Bueno *et al.* (2010), quienes observaron que el ejercicio aeróbico restableció los niveles de expresión de estas proteínas a los niveles del grupo control en un modelo de ratón con ICFEr inducida por hiperactividad simpática, esta discrepancia podría estar relacionada con la frecuencia y duración del ejercicio implementado en las dos investigaciones, así como también, por el tipo de IC, ya que la ICFEp y la ICFEr, tienen distintos sustratos fisiopatológicos. Incluso, nuestro estudio mostró una disminución en la expresión de ARNm en RyR1 en el grupo ICFEpE, lo que concuerda con la investigación de Munkvik, *et al.* (2010) donde reportaron que la pierna entrenada de pacientes con IC crónica mostraba un contenido de RyR disminuido sin cambios asociados de fuga de Ca^{2+} o velocidad de liberación.

En resumen, nuestros hallazgos proporcionan evidencia de que los ratones con ICFEp inducidos por dieta alta en grasa + L-NAME muestran disfunción del músculo esquelético, fatiga, desequilibrio en la homeostasis redox y disminución en la expresión génica de proteínas encargadas de la recaptación de Ca^{2+} (SERCA1 y NCX3) en el músculo sóleo con predominancia de fibras de tipo I, que contribuyen potencialmente al metabolismo anormal y a la intolerancia al ejercicio. Además, el ejercicio aeróbico de intensidad moderada de 4 semanas mejoró la función muscular y la tolerancia al ejercicio en la ICFEp, sin embargo, no podemos atribuir estos cambios a la mejora de la expresión de RYR1, SERCA1 o NCX3. Más bien, podrían atribuirse a los cambios en el estado redox mejorado, especialmente la capacidad antioxidante de catalasa elevada y la disminución de ERO. También, la disminución del peso corporal y la reducción del peso cardíaco, podrían tener un papel principal en la mejora del músculo esquelético en la ICFEpE.

11. Conclusión

El ejercicio de intensidad moderada mejora la fuerza de contracción muscular y el tiempo de resistencia a la fatiga, acompañado de un estado redox mejorado, sin

cambios significativos en la expresión de RyR1, SERCA1 y NCX3 en el músculo esquelético de ratones con ICFEp.

12. Literatura citada

- Adams, V., A. Linke y E. Winzer. 2017. Skeletal muscle alterations in HFrEF vs. HFpEF. *Current heart failure reports*, 14(6), 489–497. <https://doi.org/10.1007/s11897-017-0361-9>.
- Agrawal, A., G. Suryakumar y R. Rathor. 2018. Role of defective Ca²⁺ signaling in skeletal muscle weakness: Pharmacological implications. *Journal of cell communication and signaling*, 12(4), 645–659. <https://doi.org/10.1007/s12079-018-0477-z>.
- Allen, D.G., G.D. Lam y H. Westerblad. 2008. *Skeletal Muscle Fatigue: Cellular*.
- Alpsoy, S. 2020. Ejercicio e hipertensión. *Avances en medicina experimental y biología*, 1228, 153-167. https://doi.org/10.1007/978-981-15-1792-1_10.
- Anderson, A. J., T. D. Jackson, D. A. Stroud y D. Stojanovski. 2019. Mitochondria-hubs for regulating cellular biochemistry: Emerging concepts and networks. *Open Biol.* 9, 190126. [10.1098/rsob.190126](https://doi.org/10.1098/rsob.190126).
- Araiza-Garaygordobil, D., A. Fuentes-Mendoza, C. Guerrero-Pando, A. Cabello-López, P. Martínez-Amezcuca, R. Gopar-Nieto, A. I. Alonso-Vázquez, I. V. Delgado-Cruz y A. Arias-Mendoza. 2019. Heart failure with preserved ejection fraction: the dark side of an old disease. *Insuficiencia cardíaca con fracción de expulsión preservada: el lado oscuro de una vieja enfermedad. Archivos de cardiología de Mexico*, 89(4), 360–368. <https://doi.org/10.24875/ACM.19000170>.
- Bernardi, P., M. Carraro y G. Lippe. 2021. The mitochondrial permeability transition: Recent progress and open questions. *FEBS J.* [10.1111/febs.16254](https://doi.org/10.1111/febs.16254).

- Bolaños, P. y J. C. Calderón. 2022. Acoplamiento excitación-contracción en músculo esquelético de mamíferos: mezcla de investigación antigua y de la última década. *Frente Physiol*, 2;13:989796. DOI: 10.3389/FPHYS.2022.989796. PMID: 36117698; PMCID: PMC9478590.
- Boncompagni, S., D. Pozzer, C. Viscomi, A. Ferreiro y E. Zito. 2020. Physical and functional cross talk between endo-sarcoplasmic reticulum and mitochondria in skeletal muscle. *Antioxid. Redox Signal*. 32, 873–883. 10.1089/ars.2019.7934.
- Bouthoorn, S., G.B. Valstar, A. Gohar, H.M. den Ruijter, H.B. Reitsma, A.W. Hoes y F.H. Rutten. 2018. Prevalencia de disfunción diastólica del ventrículo izquierdo e insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada en hombres y mujeres con diabetes tipo 2: una revisión y metanálisis. *Diab. vasco Dis. Res*. 15 :477–493. doi: 10.1177/1479164118787415.
- Bouviere, J., R. S. Fortunato, C. Dupuy, J. P. Werneck-de-Castro, D.P. Carvalho y R.A. Louzada. 2021. Vías de señalización sensibles a ROS estimuladas por el ejercicio en el músculo esquelético. *Antioxidantes (Basilea, Suiza)*, 10(4), 537. <https://doi.org/10.3390/antiox10040537>.
- Bowen, T. S., C. Herz, N. P. Rolim, A. O. Berre, M. Halle, A. Kricke, A. Linke, G. J. da Silva, U. Wisloff y V. Adams. 2018. Efectos del entrenamiento de resistencia sobre alteraciones estructurales, celulares y funcionales perjudiciales en los músculos esqueléticos de la insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada. *Revista de insuficiencia cardíaca*, 24(9), 603–613. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2018.08.009>.
- Bozkurt, B., A. J. Coats y H. Tsutsui. 2021. Definición universal y clasificación de insuficiencia cardíaca: un informe de la Heart Failure Society of America, la Heart Failure Association of the European Society of Cardiology, la Japanese Heart Failure Society y el Comité de redacción de la definición universal de insuficiencia cardíaca: respaldado por la Canadian Heart Failure Society, Asociación de Insuficiencia Cardíaca de India, Sociedad Cardíaca de Australia y

- Nueva Zelanda, y Asociación China de Insuficiencia Cardíaca . *Eur J Heart Fail.* 23:352-380.
- Breitenbach, M., y P. Eckl. 2015. Introduction to Oxidative Stress in Biomedical and Biological Research. *Biomolecules*, 5(2), 1169–1177. <https://doi.org/10.3390/biom5021169>.
- Brini, M. y E. Carafoli. 2011. The plasma membrane Ca^{2+} ATPase and the plasma membrane sodium calcium exchanger cooperate in the regulation of cell calcium. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 3(2), a004168. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004168>.
- Bueno, C. R., J. C. Ferreira, M.G. Pereira, A. V. Bacurau y P.C. Brum. 2010. Aerobic exercise training improves skeletal muscle function and Ca^{2+} handling-related protein expression in sympathetic hyperactivity-induced heart failure. *J Appl Physiol*;109(3):702-9. doi: 10.1152/jappphysiol.00281.2010.
- Calderón, J.C., P. Bolaños y C. Caputo. 2014. El mecanismo de acoplamiento excitación-contracción en el músculo esquelético. *Biophys Rev.*, 6(1):133-160. DOI: 10.1007/S12551-013-0135-X.
- Calderón-Vélez, J. y C. Figueroa-Gordon. 2009. El acoplamiento excitación-contracción en el músculo esquelético: preguntas por responder a pesar de 50 años de estudio. *Biomedica*, 29:140–160.
- Celik, O. y B. O. Yildiz. 2021. Obesidad y ejercicio físico. *Minerva endocrinología*, 46(2), 131–144. <https://doi.org/10.23736/S2724-6507.20.03361-1>.
- Clemenza, F., R. Citarrella, A. Patti y M. Rizzo. 2022. Obesity and HFpEF. *Journal of clinical medicine*, 11(13), 3858. <https://doi.org/10.3390/jcm11133858>.
- Conde-Martel, A. y M. Hernández-Meneses. 2016. Prevalencia y significado pronóstico de la comorbilidad en la insuficiencia cardiaca. *Revista Clínica Española*. Volumen 216. Issue 4. Pages 222-228. ISSN 0014-2565. <https://doi.org/10.1016/j.rce.2015.08.005>.

- Crisci, G., M. De Luca, R. D'Assante, B. Ranieri, A. D'Agostino, V. Valente, F. Giardino, V. Capone, S. Chianese, S. Rega, R. Cocchia, M. Z. Israr, R. Debiek, L. M. Heaney y A. Salzano. 2022. Effects of Exercise on Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: An Updated Review of Literature. *Journal of cardiovascular development and disease*, 9(8), 241. <https://doi.org/10.3390/jcdd9080241>.
- Dearlove, D., S. Parry y L. Hodson. 2020. Ejercicio: ¿cuáles son los beneficios metabólicos? *Endocrinólogo. PRIMAVERA*. Link: <https://www.endocrinology.org/endocrinologist/135-spring20/features/exercise-what-are-the-metabolic-benefits/>.
- Dei Cas, A., G.C. Fonarow y M.B.J. 2015. Gheorghiad. Concomitant diabetes mellitus and heart failure. *Curr Probl Cardiol*. 40:743.
- Delbono, O. 2002. Molecular mechanisms and therapeutics of the deficit in specific force in ageing skeletal muscle. *Biogerontology*, 3(5), 265–270. <https://doi.org/10.1023/a:1020189627325>.
- Denniss, A., A. F. Dulhunty y N.A. Beard. 2018. Ryanodine receptor Ca²⁺ release channel post-translational modification: Central player in cardiac and skeletal muscle disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 101, 49–53. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2018.05.004>.
- Di Palo, K.E. y N.J. Barone. 2020. Hipertensión e insuficiencia cardíaca: prevención, objetivos y tratamiento. *Fallo cardíaco Clin*, 16, 99-106.
- Dieberg, G., H. Ismail, F. Giallauria y N.A. Smart. 2015. Clinical outcomes and cardiovascular responses to exercise training in heart failure patients with preserved ejection fraction: a systematic review and meta-analysis. *J Appl Physiol (1985)*, 119(6):726–33.
- Dremina, E. S., V. S. Sharov, M. J. Davies y C. Schoneich. 2007. Oxidación e inactivación de SERCA por reacción selectiva de residuos de cisteína con peróxidos de aminoácidos. *Chem Res Toxicol*; 20 :1462–1469.

- Duke, A. y D. Steele. 2000. Characteristics of phosphate-induced Ca(2+) efflux from the SR in mechanically skinned rat skeletal muscle fibers. *Am J Physiol Cell Physiol*, 278:C126–C135.
- Edelmann, F., et al. 2011. Exercise training improve exercise capacity and diastolic function in patients with heart failure with preserved ejection fraction: results of the Ex-DHF (Exercise training in Diastolic Heart Failure) pilot study. *Revista del Colegio Americano de Cardiología*, 58:1780–1791. DOI: 10.1016/j.jacc.2011.06.054.
- Edwards, J., N. Shanmugam, R. Ray, *et al.* 2023. Modo de ejercicio en la insuficiencia cardíaca: una revisión sistemática y un metanálisis. *Sports Med*.
- Elokda, A. S. y Nielsen, D. H. 2007. Efectos del entrenamiento físico sobre el sistema antioxidante de glutatión. *Revista europea de prevención y rehabilitación cardiovascular: revista oficial de la Sociedad Europea de Cardiología, Grupos de Trabajo sobre Epidemiología y Prevención y Rehabilitación Cardíaca y Fisiología del Ejercicio*, 14(5), 630–637. <https://doi.org/10.1097/HJR.0b013e32828622d7>.
- Eshima, H. 2021. Influence of Obesity and Type 2 Diabetes on Calcium Handling by Skeletal Muscle: Spotlight on the Sarcoplasmic Reticulum and Mitochondria. *Frontiers in physiology*, 12, 758316. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.758316>.
- Farris, S. D., F. Moussavi-Harami y A. Stempien-Otero. 2017. Heart failure with preserved ejection fraction and skeletal muscle physiology. *Heart failure reviews*, 22(2), 141–148. <https://doi.org/10.1007/s10741-017-9603-x>.
- Febbraio, M. A. 2017. Metabolismo del ejercicio en 2016: beneficios para la salud del ejercicio: ¡más de lo que parece! *Nature Reviews Endocrinology*, 13 (2), 72–74. doi: 10.1038 / nrendo.2016.218.
- Fernández, J.M., M.E. Silva-Grigolettob e I. Túnez-Fiñanac. 2009. Estrés oxidativo inducido por el ejercicio. *Revista Andaluza de Medicina del Deporte*; 2(1):19-34.

- Garbincius, J. F., J.W. Elrod. 2022. Mitochondrial calcium exchange in physiology and disease. *Physiol. Rev.* 102, 893–992. [10.1152/physrev.00041.2020](https://doi.org/10.1152/physrev.00041.2020).
- Gevaert, A. B., R. Kataria, F. Zannad, A. J. Sauer, K. Damman, K. Sharma, S. J. Shah y H. G. C. Van Spal. 2022. Heart failure with preserved ejection fraction: recent concepts in diagnosis, mechanisms and management. *Heart (British Cardiac Society)*, 108(17), 1342–1350. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2021-319605>.
- Gollnick. P. D. 1970. Los diferentes tipos de fibras musculares esqueléticas: características, funcionamiento durante el ejercicio y adaptación al entrenamiento. Department of Physical Education for Men. Gupte, A. A., y D. J. Hamilton. 2016. Exercise Intolerance in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction. *Methodist DeBakey cardiovascular journal*, 12(2), 105–109. <https://doi.org/10.14797/mdcj-12-2-105>.
- Gómez-Barroso, M., K.M. Moreno-Calderón, E. Sánchez-Duarte, C. Cortés-Rojo, A. Saavedra-Molina, A.R. Rodríguez-Orozco y R. Montoya-Pérez. 2020. Diazoxide and Exercise Enhance Muscle Contraction During Obesity By Decreased ROS Levels, Lipid Peroxidation, and Improving Glutathione Redox Status. *Antioxidantes*, 9:1232. DOI: [10.3390/antiox9121232](https://doi.org/10.3390/antiox9121232)
- Gómez-Barroso, M., M.A. Vargas-Vargas, D.J. Peña-Montes, C. Cortés-Rojo, A. Saavedra-Molina, E. Sánchez-Duarte, A.R. Rodríguez-Orozco y R. Montoya-Pérez. 2022. Efecto comparativo de tres intensidades de ejercicio diferentes en combinación con diazóxido sobre la capacidad de contracción y el estrés oxidativo del músculo esquelético en ratas obesas. *Biología*, 11(9), 1367. <https://doi.org/10.3390/biology11091367>.
- Gupte, A. A. y D.J. Hamilton. 2016. Exercise intolerance in heart failure with preserved ejection fraction. *Methodist DeBakey cardiovascular journal*, 12(2), 105–109. <https://doi.org/10.14797/mdcj-12-2-105>.
- Guyton, A. C. y J. E. Hall. 2016. Tratado de Fisiología Médica. Contracción del músculo esquelético. Elsevier. España.

- Hajouli, S. y D. Ludhwani. 2020. Heart Failure and Ejection Fraction. In StatPearls. StatPearls Publishing.
- Halliday, P.A. y J.G.F. Cleland. 2022. Mantenimiento del éxito de los pacientes con miocardiopatía dilatada y remisión de la insuficiencia cardíaca. *JACC Basic Transl Sci*; 7:500–503.
- Haykowsky, M.J., E.J. Kouba, P.H. Brubaker, B.J. Nicklas, J. Eggebeen y D.W. Kitzman. 2014. Skeletal muscle composition and its relation to exercise intolerance in older patients with heart failure and preserved ejection fraction. *Am J Cardiol*, 113:1211–6.
- Haykowsky, M.J., P.H. Brubaker, T.M. Morgan, S. Kritchevsky, J. Eggebeen y D.W. Kitzman. 2013. Deterioro de la capacidad aeróbica y el rendimiento funcional físico en pacientes mayores con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada: papel de la masa corporal magra. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.*; 68 (8):968–75.
- Horwich, T. B., G. C. Fonarow y A. L. Clark. 2018. Obesity and the Obesity Paradox in Heart Failure. *Progress in cardiovascular diseases*, 61(2), 151–156. <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2018.05.005>.
- Hunt, S. A., W. T. Abraham, M. H. Chin, M. A. M. Feldman, G. S. Francis, T. G. Ganiats, M. Jessup, M. A. Konstam, D. M. Mancini, K. Michl, J.A. Oates, P.S. Rahko, M. A. Silver, L. W. Stevenson, C. W. Yancy, E. M Antman, S. C. Smith, C. D. Adams, J. L. Anderson y D. P. Faxon. 2005. Heart Rhythm Society. ACC/AHA 2005 Guideline Update for the Diagnosis and Management of Chronic Heart Failure in the Adult: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Update the 2001 Guidelines for the Evaluation and Management of Heart Failure): developed in collaboration with the American College of Chest Physicians and the International Society for Heart and Lung Transplantation: endorsed by the Heart Rhythm Society. *Circulation*, 112(12), e154–e235. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.167586>.

- Iacopo, O., J. E. Udelson, M. Pieroni y C. Rapezzi. 2022. Causas genéticas de insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada: tratamientos farmacológicos emergentes, *European Heart Journal*. ehac764, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehac764>.
- Inashima, S., S. Matsunaga, T. Yasuda y M. Wada. 2003. Effect of endurance training and acute exercise on sarcoplasmic reticulum function in rat fast and slow-twitch skeletal muscles. *Eur J Appl Physiol*, 89:142 – 9.
- Ira-Fox, S. 2011. *Fisiología Humana. Músculo. Mecanismos de contracción y control neural*. McGraw-Hill Interamericana Editores.
- Kasai, S., S. Shimizu, Y. Tatara, J. Mimura y K. Itoh. 2020. Regulación de Nrf2 por especies mitocondriales reactivas de oxígeno en fisiología y patología. *Biomoléculas*, 10(2), 320. <https://doi.org/10.3390/biom10020320>.
- Kelley, R. y L. Betancourt, A. Noriega, S. Brinson, N. Curbello-Bermudez, D. Hahn, R. Kumar, E. Balazic, D. Muscato, R. Terence, R. van der Pijl, S. Shen, C. Ottenheijmy y L. Ferreira. 2021. Skeletal myopathy in a rat model of postmenopausal heart failure with preserved ejection fraction. *Journal of Applied Physiology*. 132. <https://doi:10.1152/jappphysiol.00170.2021>.
- Kirichok, Y., G. Krapivinsky y D. E. Clapham. 2004. The mitochondrial calcium uniporter is a highly selective ion channel. *Nature* 427, 360–364. [10.1038/nature02246](https://doi.org/10.1038/nature02246).
- Kittleson, M., G. Panjrath, K. Amancherla et al. 2023. ACC Expert Consensus Decision Pathway on Management of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *J Am Coll Cardiol*, 81 (18) 1835–1878.
- Kitzman, D.W., P. H. Brubaker, T.M. Morgan, K.P. Stewart y W.C. Little. 2010. Entrenamiento físico en pacientes mayores con insuficiencia cardíaca y fracción de eyección preservada: un ensayo aleatorizado, controlado, simple ciego. *Circulación. Insuficiencia cardíaca*, 3:659–667. doi: [10.1161/CIRCHEARTFAILURE.110.958785](https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.110.958785).

- Koepp, K.E., M. Obokata, Y.N.V. Reddy, T.P. Olson y B.A. Borlaug. 2020. Hemodynamic and functional impact of epicardial adipose tissue in heart failure with preserved ejection fraction. *JACC Hear Fail.* 8:657–666.
- Koeppen, B. M. y B. A. Stanton. 2009. Berne y Levy Fisiología. Fisiología del músculo esquelético. Elsevier. España. Lambertucci R.H., A. C. Levada-Pires, L. V Rossoni, R. Curi y T. C. Pithon-Curi. 2006. Effects of aerobic exercise training on antioxidant enzyme activities and mRNA levels in soleus muscle from young and aged rats. *Mechanisms of Ageing and Development* 128:267–275.
- Lemmer, I. L., N. WillemsenHilal, y A. Bartelt. 2021. A guide to understanding endoplasmic reticulum stress in metabolic disorders. *Molecular metabolism*, 47, 101169. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2021.101169>.
- Lewis, G. A., E. B. Schelbert, S. G. Williams, C. Cunnington, F. Ahmed, T. McDonaghA y C. A. Miller. 2017. Biological Phenotypes of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction. *Journal of the American College of Cardiology*, 70(17), 2186–2200. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.09.006>.
- Li, A., J. Yi, X. Li y J. Zhou. 2020. Physiological Ca(2+) transients versus pathological steady-state Ca(2+) elevation, who flips the ROS coin in skeletal muscle mitochondria. *Front. Physiol.* 11, 595800. [10.3389/fphys.2020.595800](https://doi.org/10.3389/fphys.2020.595800).
- Lin, Y., S. Fu y Y. Yao. 2021. Insuficiencia cardíaca con fracción de eyección conservada en función del envejecimiento y las comorbilidades. *J Transl Med* 19, 291 <https://doi.org/10.1186/s12967-021-02935-x>.
- Little, W. C y B. A. Borlaug. 2015. Exercise intolerance in heart failure with preserved ejection fraction: what does the heart have to do with it? *Circ Heart Fail.* Mar; 8(2):233-5.
- Little, W. C., D.W. Kitzman y C. P. Cheng. 2000. Diastolic dysfunction as a cause of exercise intolerance. *Heart Fail Rev.* Dec; 5(4):301-6.

- Liu, J., H.C. Yeo, E. Overvik-Douki, T. Hagen, S.J. Doniger, D.W. Chyu, G.A. Brooks y B.N. Ames. 2000. Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants. *J Appl Physiol*, 89:21 –8
- Lobstein, T., H. Brinsden, M. Neveux, O. Barata-Cavalcanti, S. Barquera, L. Baur, V. Busch, K. Buse, B. Dietz, A. French, R. Jackson-Leach, B. Opzeeland, J. Powis, J. Ralston, K. Roberts, M. Rudolf, B. Swinburn, R. Trayner y J. Wilding. 2022. *World Obesity Atlas*.
- Lorenzo-Almorós, A., J. M. Cepeda-Rodrigo y Ó. Lorenzo. 2022. Diabetic cardiomyopathy. *Revista clinica espanola*, 222(2), 100–111. <https://doi.org/10.1016/j.rceng.2019.10.012>.
- Maack, C., M. Lehrke, J. Backs, F.R. Heinzel, J.S. Hulot, N. Marx, *et al.* 2018. Heart failure and diabetes: metabolic alterations and therapeutic interventions: a state-of-the-art review from the Translational Research Committee of the Heart Failure Association-European Society of Cardiology. *Eur Heart J*. 39:424.
- Margaritelis, N. V., V. Paschalis, A.A. Theodorou, A. Kyparos y M.G. Nikolaidis. 2020. Redox basis of exercise physiology. *Redox biology*, 35, 101499. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101499>.
- Martinez-Huenchullan, S.F., B.R. Maharjan, P.F. Williams, C.S. Tam, S.V. Mclennan y S.M. Twigg. 2018. Efectos metabólicos diferenciales del entrenamiento constante de intervalos de intensidad moderada versus alta en ratones alimentados con alto contenido de grasa: posible papel de la adiponectina muscular. *Physiol Rep*, 6(4):e13599. DOI: 10.14814/PHY2.13599.
- McDonagh, T. A., M. Metra, M. Adamo, R. S. Gardner, A. Baumbach, M. Böhm, H. Burri, J. Butler, J. Čelutkienė, O. Chioncel, J. G. F. Cleland, A. J. S. Coats, M. G. Crespo-Leiro, D. Farmakis, M. Gilard, S. Heymans, A. W. Hoes, T. Jaarsma, E. A. Jankowska, M. Lainscak, C. S. P. Lam, A. R. Lyon, J. J. V. McMurray, A. Mebazaa, R. Mindham, C. Muneretto, M. F. Piepoli, S. Price, G. M. C. Rosano, F. Ruschitzka, A. K. Skibelund. 2021. ESC Scientific Document Group, 2021

ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC, European Heart Journal, Volume 42, Issue 36, 21 September, Pages 3599–3726, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehab368>.

McGarrah, R. W., C.A. Slentz y W.E. Kraus. 2016. El efecto del ejercicio aeróbico vigoroso versus de intensidad moderada sobre la acción de la insulina. *Informes cardiológicos actuales*, 18(12), 117. <https://doi.org/10.1007/s11886-016-0797-7>.

Mekrami, S y T. N. Brignol. 2006. *Bioquímica. El músculo esquelético. Saber y entender*. México.

Messerli, F.H., S.F. Rimoldi y S. Bangalore S. 2017. The transition from hypertension to heart failure: contemporary update. *JACC Heart Fail* 2017; 5 (8):543–51.

Miao, H., C. Zou, S. Yang, Y.C. Chia, M. Van Huynh, G.P., Sogunuru, J.C. Tay, T.D. Wang, K. Kario y Y. Zhang. 2022. Targets and management of hypertension in heart failure: focusing on the stages of heart failure. *Journal of clinical hypertension* (Greenwich, Conn.), 24(9), 1218–1225. <https://doi.org/10.1111/jch.14553>.

Michel, L. Y. M., S. Verkaart, F. Latta, J. G. J. Hoenderop y R. J. M. Bindels. 2017. Differential regulation of the Na⁺-Ca²⁺ exchanger 3 (NCX3) by protein kinase PKC and PKA. *Cell calcium*, 65, 52–62. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2017.02.005>.

Michel, L. Y., J. G. Hoenderop y R. J. Bindels. 2015. Towards Understanding the Role of the Na²⁺-Ca²⁺ Exchanger Isoform 3. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*, 168, 31–57. https://doi.org/10.1007/112_2015_23.

Michelucci, A., C. Liang, F. Protasi, y R.T. Dirksen. 2021. Altered Ca²⁺ Handling and Oxidative Stress Underlie Mitochondrial Damage and Skeletal Muscle

Dysfunction in Aging and Disease. *Metabolites*, 11(7), 424. <https://doi.org/10.3390/metabo11070424>.

Molina, A.J., M.S. Bharadwaj, C. Van Horn, B.J. Nicklas, M.F. Lyles, J. Eggebeen et al. 2016. Skeletal muscle mitochondrial content, oxidative capacity, and Mfn2 expression are reduced in older patients with heart failure and preserved ejection fraction and are related to exercise intolerance. *JACC Heart Fail*, 4(8):636–45.

Mul, J. D., K.I. Stanford, M.F. Hirshman y L.J. Goodyear. 2015. Ejercicio y regulación del metabolismo de los carbohidratos. *Progreso en biología molecular y ciencia traslacional*, 135, 17-37. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2015.07.020>.

Munkvik, M., T.A. Rehn, G. Slettalokken, A. Hasic, J. Hallen, I. Sjaastad, O.M. Sejersted y P.K. Lunde. 2009. Training effects on skeletal muscle calcium handling in human chronic heart failure. *Med Sci Sports Exerc*, 42: 847–855.

Nichols, G.A., K. Reynolds, T.M. Kimes, A.G. Rosales y W.W. Chan. 2015. Comparación del riesgo de rehospitalización, mortalidad por todas las causas y utilización de recursos de atención médica en pacientes con insuficiencia cardíaca y fracción de eyección preservada versus reducida. *Soy J Cardiol*. 116:1088–1092. <https://doi: 10.1016/j.amjcard.2015.07.018>.

Obokata, M., Y. N. Reddy, S. V. Pislaru, Melenovsky y B. A. Borlaug. 2017. Evidencia que respalda la existencia de un fenotipo obeso distinto de HFpEF. *Circulación*.; 136 :6. <https://doi: 10.1161/CIRCULACIÓN.AHA.116.026807>.

Oliveros, E., V.K Somers, O. Sochor, K. Goel y F. Lopez-Jimenez. 2014. El concepto de obesidad con peso normal. *prog. Cardiovasc. Dis*. 56:426–433. <https://doi: 10.1016/j.pcad.2013.10.003>.

Palau, P., V. Bertomeu-González, J. Sanchis, M. Soler, R. de la Espriella, E. Domínguez, E. Santas, E. Núñez, F.J. Chorro, G. Miñana, A. Bayés-Genís y J. Núñez. 2020. Differential prognostic impact of type 2 diabetes mellitus in women and men with heart failure with preserved ejection fraction. *Revista española de*

cardiologia (English ed.), 73(6), 463–470.
<https://doi.org/10.1016/j.rec.2019.09.002>.

Paneroni, M., E. Pasini, L. Comini, M. Vitacca, F. Schena, S. Scalvini y M. Venturelli. 2018. Miopatía del músculo esquelético en la insuficiencia cardíaca: el papel de la fracción de eyección. 26;20(11):116. DOI: 10.1007/S11886-018-1056-X. PMID: 30259199.

Pappasa, L. y G. Filippatosb. 2011. Pulmonary Congestion in Acute Heart Failure: From Hemodynamics to Lung Injury and Barrier Dysfunction. *Rev Esp Cardiol*. 64(9):735–738. DOI: 10.1016/j.recesp.2011.05.006.

Paulo, W.J y C. Tschöpe. 2013. Un paradigma novedoso para la insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada: las comorbilidades impulsan la disfunción miocárdica y la remodelación a través de la inflamación del endotelio microvascular coronario. *J Am Coll Cardiol*, 62:263–271.

Paulus, W. J. 2020. Descubrimientos en desarrollo en la insuficiencia cardíaca. *N Engl J Med*; 382:679–682.

Periasamy, M. y A. Kalyanasundaram. 2007. Isoformas de la bomba SERCA: su papel en el transporte de calcio y la enfermedad. *Nervio Muscular*; 35:430–442.

Periasamy, M., S. K. Maurya, S. K. Sahoo, S. Singh, S. K. Sahoo, F. C. G. Reis y N. C. Bal. 2017. Papel de la bomba SERCA en la termogénesis y el metabolismo muscular. *Compr Fisiol*; 7:879–890.

Philipp, R., K., C. Lücke, y P. Lurz. 2017. Diagnostic and Prognostic Value of CMR T1-Mapping in Patients with Heart Failure and Preserved Ejection Fraction. *Revista Española de Cardiología (English Edition)*. Volume 70, Issue 10. Pages 848-855, ISSN 1885-5857. <https://doi.org/10.1016/j.rec.2017.02.018>.

Piña, I. L., C. S. Apstein, G. J. Balady, R. Belardinelli, B. R. Chaitman, B. D. Duscha, B. J. Fletcher, J. L. Fleg, J. N. Myers, M. J. Sullivan y American Heart Association. 2003. Committee on exercise, rehabilitation, and prevention Exercise and heart

failure: A statement from the American Heart Association Committee on exercise, rehabilitation, and prevention. *Circulation*, 107(8), 1210–1225. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000055013.92097>.

Pugliese, N. R., P. Pellicori, F. Filidei, N. De Biase, P. Maffia, T. J. Guzik, S. Masi, S. Taddei, J. G. Cleland. 2022. Vías inflamatorias en la insuficiencia cardíaca con fracción de eyección del ventrículo izquierdo conservada: implicaciones para futuras intervenciones, *Investigación cardiovascular*, cvac133, <https://doi.org/10.1093/cvr/cvac133>.

Qaisar, R., M. Qayum y T. Muhammad. 2021. Reduced sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase activity underlies skeletal muscle wasting in asthma. *Life Sci.* 2021, 273, 119296.

Qaisar, R., S. Bhaskaran, P. Premkumar, R. Ranjit, K. S. Natarajan, B. Ahn, K. Riddle, D. R. Claffin, A. Richardson, S. V. Brooks y H. Van Remmen. 2018. Oxidative stress-induced dysregulation of excitation-contraction coupling contributes to muscle weakness. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 9(5), 1003–1017. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12339>.

Qaisar, R., S. Bhaskaran, R. Ranjit, K. Sataranatarajan, P. Premkumar, K. Huseman, y H. Van Remmen. 2019. Restoration of SERCA ATPase prevents oxidative stress-related muscle atrophy and weakness. *Redox Biol.*, 20, 68–74.

Quiroz-Gutiérrez, F. 2012. *Tratado de Anatomía Humana. Miología*. Porrúa. México.

Rahman, I., A. Kode y K. Biswas. 2006. Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. *Nature protocols*, 1(6), 3159–3165. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.378>

Rathod, N., J.J. Bak, J.O. Primeau, M.E. Fisher, L.M. Espinoza-Fonseca, M. Lemieux, et al. 2021. Nothing regular about the regulins: Distinct functional properties of SERCA transmembrane peptide regulatory subunits. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 8891. [10.3390/ijms22168891](https://doi.org/10.3390/ijms22168891).

- Reddy, Y. N. V., M. Obokata, B. Wiley, K.E. Koepp, C.C. Jorgenson, A. Egbe, V. Melenovsky, R.E. Carter y B.A. Borlaug, 2019. The haemodynamic basis of lung congestion during exercise in heart failure with preserved ejection fraction. *European heart journal*, 40(45), 3721–3730. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz713>.
- Reiken, S., A. Lacampagne, H. Zhou, A. Kherani, S.E. Lehnart, C. Ward, F. Huang, M. Gaburjakova, J. Gaburjakova, N. Roseblit, M.S. Warren, K.L. He, G. H. Yi, J. Wang, D. Burkhoff, G. Vassort y A.R. Marks. 2003. PKA phosphorylation activates the calcium release channel (ryanodine receptor) in skeletal muscle: defective regulation in heart failure. *The Journal of cell biology*, 160(6), 919–928. <https://doi.org/10.1083/jcb.200211012>.
- Rincón, O. A., A. F. Milán, J.C. Calderón y M.A. Giraldo. 2021. Comprehensive simulation of Ca²⁺ transients in the continuum of mouse skeletal muscle fiber types. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 12378. [10.3390/ijms222212378](https://doi.org/10.3390/ijms222212378).
- Rossi, A. E., S. Boncompagni y R.T. Dirksen. 2009. Sarcoplasmic reticulum-mitochondrial symbiosis: Bidirectional signaling in skeletal muscle. *Exerc. Sport Sci. Rev.* 37, 29–35. [10.1097/JES.0b013e3181911fa4](https://doi.org/10.1097/JES.0b013e3181911fa4).
- Saavedra-Alvarez, A., K. V. Pereyra, C. Toledo, R. Iturriaga y R. Del Rio. 2022. Vascular dysfunction in HFpEF: Potential role in the development, maintenance, and progression of the disease. *Frontiers in cardiovascular medicine*, 9, 1070935. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.1070935>.
- Santulli, G., D. Lewis, A. Georges, A. R. Marks, y J. Frank. 2018. Ryanodine Receptor Structure and Function in Health and Disease. *Sub-cellular biochemistry*, 87, 329–352. https://doi.org/10.1007/978-981-10-7757-9_11.
- Saw, E. L., S. Ramachandran, M. Valero-Muñoz y F. Sam. 2021. Función del músculo esquelético (dis) en la insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada. *Opinión actual en cardiología*, 36(2), 219–226. <https://doi.org/10.1097/HCO.0000000000000824>.

- Schiattarella, G. G., D. Rodolico y J. A. Hill. 2021. Metabolic inflammation in heart failure with preserved ejection fraction. *Cardiovascular research*, 117(2), 423–434. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa217>.
- Schiattarella, G. G., F. Altamirano, D. Tong, K. M. French, E. Villalobos, S. Kim, X. Luo, N. Jiang, H. I. May, Z. V. Wang, T. M. Hill, P. Mammen, J. Huang, D. E. Lee, V. S. Hahn, K. Sharma, D. A. Kass, S. Lavandro, T. Gillette, y J. A. Hill. 2019. Nitrosative stress drives heart failure with preserved ejection fraction. *Nature*, 568(7752), 351–356. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1100-z>.
- Seiler, M., T. Scott-Bowen, N. Rolim, M.T. Dieterlen, S. Werner, T. Hoshi, T. Fischer, N. Mangner, A. Linke, G. Schuler, M. Halle, U. Wisloff y V. Adams. 2016. Skeletal Muscle Alterations Are Exacerbated in Heart Failure With Reduced Compared With Preserved Ejection Fraction Mediated by Circulating Cytokines? *Circulation: Heart Failure*.9:9. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.116.003027>.
- Shoshan-Barmatz, V. y S. De. 2017. Mitochondrial VDAC, the Na(+)/Ca(2+) exchanger, and the Ca(2+) uniporter in Ca(2+) dynamics and signaling. *Adv. Exp. Med. Biol.* 981, 323–347. [10.1007/978-3-319-55858-5_13](https://doi.org/10.1007/978-3-319-55858-5_13).
- Sorrentino, M. J. 2019. The Evolution from Hypertension to Heart Failure. *Heart failure clinics*, 15(4), 447–453. <https://doi.org/10.1016/j.hfc.2019.06.005>.
- Sun, H., P. Saeedi, S. Karuranga, M. Pinkepank, K. Ogurtsova, B. Duncan, C. Stein, A. Basit, J. C. N. Chan, J. C. Mbanya, M.E. Pavkov, A. Ramachandaran, S.H. Wild, S. James, W. H. Herman, P. Zhang, C. Bommer, S. Kuo, E.J. Boyko y D.J. Magliano. 2022. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes research and clinical practice*, 183, 109119. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109119>.
- Szabadkai G. y M. R. Duchon. 2008. Mitochondria: The hub of cellular Ca²⁺ signaling. *Physiology* 23, 84–94. [10.1152/physiol.00046.2007](https://doi.org/10.1152/physiol.00046.2007).
- Szabadkai, G. y Duchon M. R. (2008). Mitochondria: The hub of cellular Ca²⁺ signaling. *Physiology* 23, 84–94. [10.1152/physiol.00046.2007](https://doi.org/10.1152/physiol.00046.2007).

- Teles, M. C., A.M. Oliveira-Portes, C. Campos, L.T. Resende y M.C. Isoldi. 2022. Cardiac changes in spontaneously hypertensive rats: Modulation by aerobic exercise. *Progress in biophysics and molecular biology*, S0079-6107(22)00117-1. Advance online publication. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2022.11.001>.
- Thomas, M. M., K. E. Trajcevski, S.K. Coleman, M. Jiang, J. Di Michele, H.M. O'Neill, J.S. Lally, G.R. Steinberg y T.J. Hawke. 2014. Early oxidative shifts in mouse skeletal muscle morphology with high-fat diet consumption do not lead to functional improvements. *Physiological reports*, 2(9), e12149. <https://doi.org/10.14814/phy2.12149>.
- Tortora, G. J. y B. Derrickson. 2006. *Principios de Anatomía y Fisiología. Tejido muscular*. Médica Panamericana. España.
- Tripodiadis, F., A. Xanthopoulos, A. Bargiota, T. Kitai, N. Katsiki, D. Farmakis, J. Skoularigis, R.C. Starling y E. Iliodromitis. 2021. Diabetes Mellitus and Heart Failure. *Journal of clinical medicine*, 10(16), 3682. <https://doi.org/10.3390/jcm10163682>.
- Trullás, J. C., J. I. Pérez-Calvo, A. Conde-Martel, P. Llàcer-Iborra, I. Suárez-Pedreira, G. Ormaechea, L. Soler-Rangel, A. González-Franco, J. M. Cepeda, M. Montero-Pérez y en representación de los investigadores del registro RICA. 2021. Epidemiology of heart failure with preserved ejection fraction: Results from the RICA Registry. *Epidemiología de la insuficiencia cardiaca con fracción de eyección preservada: resultados del Registro RICA. Medicina clinica*, 157(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2020.05.059>.
- Tsujimoto, T. y H. Kajio. 2017. Abdominal Obesity Is Associated With an Increased Risk of AllCause Mortality in Patients With HFpEF. *Journal of the American College of Cardiology*. 70:2739-2749.
- Tucker, W. J., M. J. Haykowsky, Y. Seo, E. Stehling y D.E. Forman. 2018. Impaired Exercise Tolerance in Heart Failure: Role of Skeletal Muscle Morphology and

- Function. *Current heart failure reports*, 15(6), 323–331. <https://doi.org/10.1007/s11897-018-0408-6>.
- Tuleta, I. y N.G. Frangogiannis. 2021. Fibrosis diabética. *Bioquímica Biografía. Acta Mol Base Dis*. 1867:166044. <https://doi:10.1016/j.bbadis.2020.166044>.
- Tupling, R. 2004. The sarcoplasmic reticulum in muscle fatigue and disease: role of the sarco(endo)plasmic reticulum Ca²⁺-ATPase. *Can J Appl Physiol*, 29:308–329.
- Valentim, M. A., A. N. Brahmhatt y A.R. Tupling. 2022. Skeletal and cardiac muscle calcium transport regulation in health and disease. *Bioscience reports*, 42(12), BSR20211997. <https://doi.org/10.1042/BSR20211997>.
- Watson, H. 2015. Membranas biológicas. *Ensayos Bioquímica*. 59: 43–69.4.
- Weiss, K., M. Schär, G.S. Panjra, Y. Zhang, K. Sharma, P.A. Bottomley, et al. 2017. Fatigability, exercise intolerance, and abnormal skeletal muscle energetics in heart failure. *Circ Heart Fail*, 10:e004129.
- Whitham, M. y M.A. Febbraio. 2016. El myokinome en constante expansión: desafíos de descubrimiento e implicaciones terapéuticas. *Nat. Rev. Descubrimiento de Drogas*. 15, 719–729.
- Wolsk, E., D. Kaye, J. Komtebedde, S.J. Shah, B.A. Borlaug, D. Burkoff, et al. 2019. Determinantes centrales y periféricos de la capacidad de ejercicio en pacientes con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada. *JACC insuficiencia cardíaca*, 7(4):321–32.
- Wood, N., S. Straw, M. Scalabrin, L. D. Roberts, K. K. Witte y T. S. Bowen. 2021. Skeletal muscle atrophy in heart failure with diabetes: from molecular mechanisms to clinical evidence. *ESC heart failure*, 8(1), 3–15. <https://doi.org/10.1002/ehf2.13121.v>.
- Xu, H., y H. Van Remmen. 2021. The SarcoEndoplasmic Reticulum Calcium ATPase (SERCA) pump: a potential target for intervention in aging and skeletal muscle

pathologies. *Skeletal muscle*, 11(1), 25. <https://doi.org/10.1186/s13395-021-00280-7>.

Yano, T., S. Katano, H. Kouzu, R. Nagaoka, T. Inoue, Y. Takamura, T. Ishigo, A. Watanabe, K. Ohori, M. Koyama, N. Nagano, T. Fujito, R. Nishikawa, A. Hashimoto y T. Miura. 2020. Distinct determinantes of atrofia muscular en pacientes con insuficiencia cardíaca no obesos con y sin diabetes mellitus tipo 2. *J Diabetes*.

Zamani, P., E.A. Proto, J.A. Mazurek, S.B. Prenner, K.B. Margulies, R.R. Townsend et al. 2020. Determinantes periféricos de la utilización de oxígeno en la insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada: papel central de la adiposidad. *JACC Basic Transl Sci*, 5(3):211–25.

Zareini, B., R. Rorth, A. Holt, U.M. Mogensen, C. Selmer, G. Gislason, M. Schou, L. Kober, C. Torp-Pedersen, M. Lamberts, et al. 2019. Insuficiencia cardíaca y el impacto pronóstico y la incidencia de diabetes mellitus de nueva aparición: un estudio de cohorte a nivel nacional. *Cardiovasc. Diabetol.* 18:79. <https://doi:10.1186/s12933-019-0883-4>.