Cinética trifásica exponencial contráctil aortorácica a KCl independiente de la edad en ratas

Triphasic exponential aortothoracic contractile kinetics to KCl independent of age in rats

Javier Padilla-Pérez^{1,2*}, Óscar A. López-Canales^{2,3}, Javier Padilla-Keymole⁴,
Ma. del Carmen Castillo-Hernández² y Ramón Zambrano-Padilla⁵

¹Departamento de Formación Básica Disciplinaria, Sección de Fisiología Humana, Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, México; ²Sección de Estudios de Posgrado e Investigación, Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, México; ³Departamento de Ciencias Básicas, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, México; ⁴Ciencias de la Computación, Concordia University, Montreal, Quebec, Canadá; ⁵Animación digital, Universidad Centenaria, Toronto, Ontario, Canadá

Resumen

Evaluamos por su significado fisiológico y el mejor mérito estadístico de los modelos bi- y tri-exponenciales y la cinética (constante de tiempo τ , s) de la tensión transitoria contráctil (g) inducida con KCl 40 mM (Tensión[On]) en anillos aortotórácicos de cuatro grupos de ratas Wistar macho (4Gs) de 4.5, 6, 13.5 y 16.2 semanas de edad. El mejor ajuste se obtuvo con el tri-exponencial que distinguió tres diferentes fases cinéticas esperadas ($\tau \Phi 1 < \tau \Phi 2 < \tau \Phi 3$) en cada grupo ($p < 0.05$) pero fueron independientes de la edad (4Gs, $n = 24$, $p > 0.05$): rápida (33.5 ± 15.2), moderadamente rápida (1370 ± 43.0) y lenta (281.0 ± 287.0) respectivamente. Esta respuesta trifásica exponencial ($\tau 1 < \tau 2 < \tau 3$) puede estar relacionada con tres eventos de la dinámica del calcio intracelular tradicionales de la Tensión[On] inducida por despolarización muscular arterial.

Palabras clave: Rata macho. Prepuberal. Adulta. Cinética. Contracción aórtica. Constante de tiempo.

Abstract

We evaluated for their physiological significance and the best statistical merit of the bi- and tri-exponential models and the kinetics (time constant τ , s) of the contractile transient tension (g) induced with 40mM KCl ([On]Tension) in aortothoracic rings from four groups of 4.5 -, 6 -, 13.5 - and 16.2 - week old male Wistar rats. The best fit was obtained with the tri-exponential that distinguishes three different expected kinetic phases ($\tau \Phi 1 < \tau \Phi 2 < \tau \Phi 3$) in each group ($p < 0.05$) but they were independent of age (4Gs, $n = 24$, $p > 0.05$): fast $\tau 1$ (33.5 ± 15.2), moderately fast $\tau 2$ (1370 ± 43.0) and slow $\tau 3$ (281.0 ± 287.0). These exponential triphasic response ($\tau 1 < \tau 2 < \tau 3$) may be related to three events of traditional intracellular calcium dynamics of [On]Tension induced by arterial muscle depolarization.

Key words: Male rat. Prepubertal. Adult. Kinetics. Aorta contraction. Time constant.

Correspondencia:

*Javier Padilla-Pérez
E-mail: jppgenius@hotmail.com

Fecha de recepción: 30-05-2020

Fecha de aceptación: 03-07-2020

DOI: 10.24875/RHJM.20000071

Disponible en internet: 13-11-2020

Rev Hosp Jua Mex. 2020;87(3):122-129

www.revistahospitaljuarez.com

1405-9622/© 2020 Sociedad Médico-Quirúrgica del Hospital Juárez de México, A.C. Publicado por Permanyer. Este es un artículo open access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

La concentración de Ca^{2+} libre citosólico ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) es la principal señal responsable de la activación de las proteínas contráctiles de las células musculares lisas vasculares (CMLV), mediante la fosforilación de la cadena ligera reguladora de la miosina (CLM) al aumentar la actividad de la cinasa de la CLM dependiente el complejo Ca^{2+} -calmodulina (CCLM) en relación con la actividad de la fosfatasa (FCLM)¹; la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ también está sintonizada por transportadores múltiples, compartimentos y amortiguadores de las CMLV²⁻⁴, como la despolarización por potasio y la activación del receptor acoplado a la proteína G (RAPG) como la fenilefrina (FE) que ocurre en la aorta de rata^{5,6}.

Por otro lado, el modelo matemático triexponencial de tipo empírico⁷ nos ha permitido identificar una rápida, una moderadamente rápida y una lenta fase cinética de tensión isométrica (Tensión[On], g) inducida con FE $1\mu\text{M}$ ⁷ que postulamos sobre la base de tres eventos teóricos (S1, S2, S3)^{8,9} relacionados con la dinámica del Ca^{+2} intracelular. El endotelio secreta y modifica las sustancias vasoactivas que afectan la reactividad vascular y expresa receptores para regular el crecimiento y el comportamiento de las CMLV¹⁰, además de que las arterias posnatales pequeñas y grandes varían considerablemente en apariencia y localización¹¹⁻¹³. Sin embargo, no se ha hecho ningún estudio cinético de este tipo en Tensión[On] inducida con cloruro de potasio (KCl), para investigar si hay tres fases de tensión teóricamente basadas en tres eventos^{8,9}, para abundar en los estudios de contracción vascular fisiológica y fisiopatológica del área biomédica.

El KCl es un estímulo que elude los RAPG al activar la contracción de las CMLV al abrir canales de calcio operados por voltaje (CCOV)⁴ al despolarizar la membrana y aumenta la $[\text{Ca}^{2+}]_i$, que a su vez puede activar la concentración de Ca^{2+} /calmodulina y causar contracción de las CMLV⁵, y que también puede estimular sistemas de señalización de Ca^{2+} más complejos como la liberación de Ca^{2+} de las reservas intracelulares de $\text{Ca}^{2+4,14}$, la sensibilización parcial con Ca^{2+} , la regulación del grado de sensibilidad al Ca^{2+} por los elementos contráctiles que causan también la desensibilización del $\text{Ca}^{2+4,5,14}$ e incluso causar tanto la desensibilización del Ca^{2+} inducida por el Ca^{2+} como la sensibilización del Ca^{2+} inducida por el Ca^{2+} por medio de modificaciones en la actividad CCLM, y tal vez cambiar la actividad de la RhoA cinasa (ROC) en la regulación de la contracción del músculo liso^{4,5}.

Propósito

Ajustar la cinética, con base en la constante de tiempo (τ , s) de la Tensión[On] inducida con KCl de anillos de aortotorácicos (AoTx) en ratas prepuberales y adultas con un modelo biexponencial (2C,7P)⁷ y otro triexponencial (3CM,10P)⁷ para evaluarlos en su mejor ajuste en méritos estadístico (prueba de Fisher)¹⁵ fisiológico teórico sobre la contractilidad de las CMLV⁸⁻¹⁰. Aplicamos el modelado a la Tensión[On] inducida con KCl de ratas macho, prepuberales que todavía no alcanzan su capacidad reproductora comparadas con adultas que ya la tienen bien establecida, para estudiar si modelaban diferente dichas expresiones exponenciales. También se decidió utilizar un grupo de jóvenes prepuberales (G1) de 4.5 semanas de edad, uno de puberales (G2) de 6 semanas de edad, uno de jóvenes adultas (G3) de 13.5 semanas de edad y otro de adultas (G4) de 16.2 semanas de edad, y también estudiar si había diferencias cinéticas relacionadas con la edad cronológica de las ratas.

Hipótesis

Si la cinética de la Tensión[On] inducida con KCl consta de las tres secuencias teóricas básicas de eventos mencionados, entonces dicha tensión constará de tres fases de exponenciales (Tensión[On]: $\Phi 1$, $\Phi 2$, $\Phi 3$) y estas fases deberán ser ajustadas mejor y ser cinéticamente diferentes ($\neq$) en términos de su constante de tiempo (Tensión[On]: $\tau \Phi 1 \neq \tau \Phi 2 \neq \tau \Phi 3$) con el modelo triexponencial comparado con el modelo biexponencial y si ello es dependiente de la edad.

Material y métodos

Productos químicos

El clorhidrato de l-fenilefrina, el cloruro de acetilcolina (ACh) y el KCl se adquirieron a Sigma (St. Louis, MO, EE.UU.). El pentobarbital sódico se obtuvo de Pfizer (México). Estos productos químicos y todas las demás soluciones se prepararon con agua ultrapura tipo I.

Animales de laboratorio. Aprobación ética

El estudio se realizó con 24 ratas Wistar macho y fue aprobado por el Comité de cuidado de animales de laboratorio de nuestra institución y se realizó de acuerdo con las pautas éticas de la misma (protocolos n.ºs 30233/04-01; 20200183)¹⁶. Se formaron cuatro grupos de edad en semanas (4Gs) y $n = 6$ por grupo: G1 con

116 ± 4 g de masa corporal total (MCT); G2 (130 ± 31); G3 (164 ± 10) y G4 (313 ± 10)¹⁷. Los G1 y G2 son muy similares en edad y también lo son los G3 y G4, porque quisimos estudiar el posible efecto en la cinética de la *Tensión[On]* a KCl en tejido AoTx de la eclosión hormonal teórica implícita desde el grupo prepuberal hasta la adultez¹⁷.

Preparación de muestras y reactividad vascular

Se han descrito previamente en otro lugar⁷. En breve, después de sacrificar al animal por decapitación, se separaron segmentos AoTx y se cortaron entre tres y cuatro anillos de cada animal para obtener un archivo de *Tensión[On]* promedio por animal para modelarlo^{7,15,18}. Los anillos se montaron y se colocaron en una cámara de órgano aislado de 10 ml que contenía solución de Krebs a 37 °C, pH 7.4 y se burbujeó con una mezcla del 95% de O₂ y 5% de CO₂¹⁹ y la señal analógica a digital fue capturada y presentada en tiempo real por medio de una computadora personal mediante el programa ACQKnowledge en el entorno de Windows®, permitió registrar los cambios de tensión isométrica (*Tensión[On]*) con un transductor de desplazamiento en cada preparación previa tensión inicial de 2 gramos. Se comprobó el endotelio funcional en respuesta a 1 µM de Acth después de la constricción previa AoTx con 1 µM de FE¹⁹. Estimulamos con KCl (40 mM) los anillos AoTx de cada uno de los animales de 4Gs para obtener una contracción submáxima de la célula muscular lisa vascular (CMLV)^{4,14} para probar nuestra hipótesis.

Modelado

Las técnicas de modelado se describieron en otra parte⁷ para un modelo biexponencial (2CM,7P) y otro triexponencial (3CM,10P) a base de una misma ventana de modelado (LBR_Inicio_Fin) que ajustaron el curso temporal de una curva de *Tensión[On]*^{18,20,21}, pero ahora se aplicaron para el estímulo con KCl 40 mM. El valor numérico de la duración de la constante de tiempo en segundos(τ) que es el tiempo en el que se alcanzó el 63% de la *Tensión[On]* AoTx a KCl obtenida con dichos modelos exponenciales se determinó su cinética (*Tensión[On]*).

Análisis estadístico

El tamaño de muestra se describió en otro lugar^{16,19}. Se hizo la prueba t de Student o el análisis de varianza (ANOVA) de uno o de dos factores, donde fue apropiado,

Figura 1. Curso temporal de tensión transitoria contráctil isométrica inducida con cloruro de potasio (KCl) 40 mM aplicado (Inicio) a los tejidos AoTx de los grupos de ratas macho de diferente edad cronológica en semanas. Los grupos fueron jóvenes prepuberales, prepuberales, adultos jóvenes y adultos de 4.5, 6, 13.5 y 16.2 semanas respectivamente.

para comparar los valores numéricos promedio de los datos de interés²²; los *post hoc* de Holm-Sidack (F_{valor}) y la prueba de Tukey (H_{valor}) se usaron cuando fue apropiado. Un valor de $p < 0.05$ se consideró objetivo. Se reportan promedio ± desviación estándar (DE).

Resultados

La *Tensión[On]* a KCl de 4Gs (Fig. 1) del mejor ajuste a base de los residuales del modelo triexponencial comparado con el biexponencial para una rata representativa de 4Gs se muestran en la figura 2.

Análisis entre modelos

El modelo triexponencial identificó tres fases funcionales (*Tensión[On]*) de cinética distinta (rápida, moderadamente rápida y lenta) dentro de la *Tensión[On]* a KCl en 4Gs estadística (Tablas 1 y 2) y fisiológicamente (Fig. 2) mejor comparado con el biexponencial que solo distinguió dos (rápida y demasiado lenta) (Tabla 3, Fig. 2). El triexponencial también permitió observar el orden cinético (Tablas 1-3, *post hoc* con las mismas letras) intragrupo, donde el ANOVA de un factor mostró en los G1 $^aH_{valor} = 54.512$, G2 $^bH_{valor} = 15.158$, G3 $^cF_{valor} = 102.076$ y, G4 $^dF_{valor} = 839.507$ ($p < 0.05$, $n = 6$ por grupo) (Fig. 3) en términos de $\tau_1 < \tau_2 < \tau_3$ (Tabla 3).

Figura 2. Se muestra el mejor ajuste con base en los residuales del modelo matemático exponencial empírico de tres componentes y diez parámetros (3CM,10P) comparado con el de dos componentes y siete parámetros (2CM,7P), ambos con una misma ventana de ajuste (LBR_Inicio_Fin) de los datos experimentales, de un ejemplo de una sola rata de cada uno de los cuatro grupos de ratas macho de edad cronológica diferente en semanas. Φ es una fase exponencial transitoria; 1, 2 y 3 son el número de Φ . 2C y 3C son dos y tres tiempos de retraso (TD) respectivamente. A es la amplitud (ganancia) de una respuesta. Atot es la amplitud total ($A_1 + A_2 + A_3$). τ es el tiempo en segundos en que se logra el 63 % de la ganancia de la amplitud de una Φ . 7P son TD1, TD2; A0, A1, A2; τ_1 , τ_2 . 10P son 7P, TD3, A3, τ_3 . Tensión[On] a KCl es el desarrollo de tensión transitoria contráctil isométrica en gramos durante su curso temporal, inducida con cloruro de potasio 40mM.

Tabla 1. RSS y MSE estimados con los modelos matemáticos exponenciales biexponencial y triexponencial que ajustaron la tensión transitoria desarrollada durante la contracción isométrica inducida con cloruro de potasio a concentración de 40 mM en segmentos aortotorácicos de cuatro grupos de ratas de diferente edad cronológica

Grupo (semanas)	(n)		Rata	2CM,7P						3CM,10P					
			N.º	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
4.5	(6)	RSS		2.0284	1.0402	1.0425	1.4067	1.8875	2.7674	2.0614	1.2018	0.9293	1.0883	1.7996	2.4965
		MSE		6	3	3	4	6	9	6	4	3	3	6	8
6	(6)	RSS		0.4745	0.7825	3.3137	3.1913	0.7515	2.2581	0.4912	0.5573	3.3871	3.0873	0.7548	1.9865
		MSE		1	3	11	11	3	8	1	2	12	11	3	7
13.5	(6)	RSS		1.1395	1.3392	0.8208	0.7622	1.1793	1.3734	1.1515	1.1181	0.8679	0.7966	1.3609	1.3285
		MSE		4	5	4	3	5	5	4	5	4	3	6	5
16.2 semanas	(6)	RSS		1.1288	0.8005	1.4225	1.1773	1.356	0.7549	1.1016	0.7954	1.243	1.1512	1.3554	0.8094
		MSE		4	3	6	5	5	3	4	3	5	5	5	4

MSE se expresa como 10^{-4} .

n: tamaño de la muestra; RSS: suma residual de cuadrados; MSE: error cuadrático medio; 2CM,7P y 3CM,10P: modelos matemáticos biexponencial y triexponencial de dos componentes con siete parámetros y de tres componentes con diez parámetros respectivamente.

Tabla 2. Resultados de la prueba de Fisher utilizada para valorar el modelo matemático exponencial de mejor ajuste estadístico obtenido al comparar un modelo simple respecto a otro modelo complejo que modelaron la misma ventana de ajuste de la tensión transitoria de las contracciones isométricas inducidas con KCl en segmentos aórticos torácicos de cuatro grupos de ratas de diferente edad cronológica

Prueba de Fisher											
4.5 semanas (n = 6)			6 semanas (n = 6)			13.5 semanas (n = 6)			16.2 semanas (n = 6)		
FcalRSS	Ftab	*MejorModelo	FcalRSS	Ftab	*MejorModelo	FcalRSS	Ftab	*MejorModelo	FcalRSS	Ftab	*MejorModelo
17.85	2.61	3CM,10P	35.15	2.61	3CM,10P	8.47	2.61	3CM,10P	21.28	2.61	3CM,10P
133.88	2.61	3CM,10P	360.18	2.61	3CM,10P	162.61	2.61	3CM,10P	5.22	2.61	3CM,10P
104.56	2.61	3CM,10P	18.61	2.61	3CM,10P	39.87	2.61	3CM,10P	109.08	2.61	3CM,10P
250.92	2.61	3CM,10P	29.09	2.61	3CM,10P	28.5	2.61	3CM,10P	19.54	2.61	3CM,10P
36.31	2.61	3CM,10P	7.58	2.61	3CM,10P	92.83	2.61	3CM,10P	0.32	2.61	2CM,7P
97.05	2.61	3CM,10P	118.49	2.61	3CM,10P	34.34	2.61	3CM,10P	63.79	2.61	3CM,10P

*Modelo matemático exponencial de mejor ajuste que distinguió estadísticamente las tres fases de tensión transitoria de las contracciones isométricas inducidas con KCl en segmentos aórticos torácicos de los cuatro grupos de ratas de diferente edad cronológica

Modelo matemático triexponencial	Modelo de ajuste	Comentarios
$Tensión(t) = A_0 + A_1 \cdot (1 - \exp(-(t - TD1)/\tau_1)) + A_2 \cdot (1 - \exp(-(t - TD2)/\tau_2)) + 3CM,10P$	$Tensión(t) = A_0 + A_1 \cdot (1 - \exp(-(t - TD1)/\tau_1)) + A_2 \cdot (1 - \exp(-(t - TD2)/\tau_2)) + A_3 \cdot (1 - \exp(-(t - TD3)/\tau_3))$	distinguió la $\Phi_1 \tau$ de la $\Phi_2 \tau$ y A_3 •

*Prueba de Fisher ($F_{calculada}$ a 0.05 de nivel de significancia y de un extremo: $F_{calculada} > F_{tabulada}$ ($1 - \alpha$, $GL_{Numerador} = 3$, $GL_{Denominador} = 6$). GL: grados de libertad. Si $F_{calculada} > F_{tabulada}$, entonces el modelo más complejo (3CM,10P) ajusta mejor la $Tensión(t)$, lo contrario ($F_{calculada} < F_{tabulada}$) significa que el modelo más simple (2CM,7P) ajusta mejor la $Tensión(t)$. Los 2CM y 3CM: corresponden a los dos (dos TD) y tres componentes (tres TD) de los modelos biexponencial con siete parámetros y al triexponencial con 10 parámetros, respectivamente. Línea basal del reposo_Inicio_Fin: ventana de ajuste de la respuesta transitoria (Tensión[On]) experimental utilizada en los modelos. $Tensión(t)$: curso temporal del desarrollo de tensión (g) modelada. cal y tab: calculada y tabulada respectivamente. KCl: cloruro de potasio; RSS: Suma residual de cuadrados estimados con los modelos matemáticos de ajuste simple (biexponencial) vs. complejo (triexponencial).

Modelo triexponencial. Análisis entre grupos

La amplitud estimada de la tensión de la fase dos (A_2 , g) fue mayor en el grupo adulto (excepto el joven*) comparado con el grupo prepuberal. A_2 mayor en G4

(0.38 ± 0.12) comparado con G1 (0.15 ± 0.16) y G2 (0.17 ± 0.10) (GPs = 0.16 ± 0.13 ; n = 12*) ($F_{valor} = 6.5$; p < 0.006). La cinética (τ , s) de la respuesta trifásica de la $Tensión[On]$ no fue afectada por la edad (Tabla 3: 3CM,10P; p > 0.05;

Tabla 3. Parámetros temporales estimados con los modelos matemáticos biexponencial y triexponencial de ajuste de la Tensión[On] a KCl aortotorácica de cuatro grupos de ratas macho

Modelo	A ₀ (g)	A ₁ (g)	A ₂ (g)	A ₃ (g)	A _{tot} (g)	A ₁ /A _{tot}	A ₂ /A _{tot}	A ₃ /A _{tot}	TD1 (s)	TD2 (s)	TD3 (s)	τ1 (s)	τ2 (s)	τ3 (s)
4.5 semanas de edad (n = 6)														
3CM,10P	1.61	0.30	0.142 ^a	0.24	0.68	0.45	0.20 ^b	0.35	3.41 [#]	75.29 ^c	153.09 ^{\$}	30.43	119.69 ^d	249.07
	± 0.03	± 0.05	± 0.13	± 0.10	± 0.10	± 0.10	± 0.17	± 0.12	± 4.22	± 22.70	± 15.52	± 11.24	± 55.68	± 27.64
2CM,7P	1.61	0.29	0.38 ^a	--	0.67	0.44	0.56 ^b	--	4.17 ^f	109.10 ^{g,c}	--	26.732 ⁿ	196.92 ^{o,d}	--
	± 0.03	± 0.05	± 0.09	--	± 0.11	± 0.07	± 0.07	--	± 3.83	± 34.21	--	± 14.22	± 48.5	--
6 semanas de edad (n = 6)														
3CM,10P	1.63	0.37	0.17 ^a	0.15	0.68	0.54	0.25 ^b	0.21	4.86 ^k	115.04 ^{l,c}	163.11 ^p	36.75	177.33 ^d	301.54
	± 0.03	± 0.09	± 0.10	± 0.09	± 0.11	0.05	± 0.17	± 0.13	± 3.03	± 5.11	± 10.78	± 7.21	± 34.43	± 5.61
2CM,7P	1.63	0.37	0.30 ^a	--	0.67	0.56	0.445 ^b	--	3.847 ^h	134.82 ^{i,c}	--	38.70 ^p	210.07 ^{q,d}	--
	± 0.03	± 0.07	± 0.06	--	± 0.11	± 0.06	± 0.057	--	± 2.30	± 18.45	--	± 6.42	± 47.81	--
13.5 semanas de edad (n = 6)														
3CM,10P	1.77	0.33	0.29 ^a	0.21	0.84	0.39	0.38 ^b	0.22	5.50 ^{\$}	78.06 ^{y,c}	141.29 ^{ll}	41.95	121.70 ^d	278.45
	± 0.15	± 0.18	± 0.10	± 0.20	± 0.34	± 0.16	± 0.13	± 0.15	± 6.43	± 25.01	± 19.03	± 22.68	± 37.88	± 24.57
2CM,7P	1.77	0.34	0.48 ^a	--	0.82	0.43	0.57 ^b	--	4.61 ^j	86.64 ^{k,c}	--	46.81 ^r	185.05 ^{s,d}	--
	± 0.15	± 0.13	± 0.25	--	± 0.33	± 0.13	± 0.13	--	± 5.75	± 28.30	--	± 28.94	± 25.22	--
16.2 semanas de edad (n = 6)														
3CM,10P	1.77	0.26	0.38 ^a	0.19	0.83	0.29	0.50 ^b	21.05	23.70 ^e	74.94 ^g	157.80 ^l	24.72	128.75 ^d	295.11
	± 0.15	± 0.18	± 0.12	± 0.17	± 0.33	± 0.09	± 0.17	± 10.14	± 5.18	± 4.37	± 8.77	± 12.84	± 10.94	± 10.70
2CM,7P	1.77	0.22	0.594 ^a	--	0.83	0.27	0.71 ^b	--	23.40 ^l	77.84 ^m	--	22.96 ^t	175.72 ^{u,d}	--
	± 0.15	± 0.10	± 0.24	--	± 0.33	± 0.07	± 0.07	--	± 3.83	± 24.14	--	± 7.02	± 28.05	--

Los valores numéricos son promedio ± desviación estándar (DE).

Análisis de varianza (ANOVA) de dos factores: un par de letras iguales del mismo parámetro del mismo grupo es una diferencia significativa entre los valores numéricos promedios entre modelos; post hoc de Holm-Sidak ($p < 0.05$): ^aA₂ ($t = 7.472$), ^bA₂/A_{tot} ($t = 6.518$), ^cTD2 ($t = 6.518$), ^dτ1 ($t = 4.946$). Análisis entre los TD y entre las intramodelo e intragrupo donde los pares de letras o de signos diferentes son una diferencia significativa entre los valores numéricos promedios de dichos parámetros: prueba pareada t-Student ($p < 0.05$) en el 2CM,7P (fases 1 vs. 2) ($p < 0.05$); entre los TD: ^fτ1 = 7.14, ^gτ2 = 18.429, ^hτ3 = 7.370, ⁱτ1 = 5.944 y; entre τ1 vs. τ2: ⁿτ1 = 18.429, ^oτ2 = 9.217, ^pτ3 = 8.121, ^qτ1 = 14.088.

Análisis ANOVA de un factor en el 3CM,10P de las fases 1 vs. 2 vs. 3 e intragrupo, con los post hoc del método de Holm-Sidak (Fvalor) y el de la prueba de Tukey (Hvalor) ($p < 0.05$) entre los TD: ^hHvalor = 15.158, ^lHvalor = 782.594, ^mHvalor = 80.752, ⁿHvalor = 671.008.

--: no aplica. KCl: cloruro de potasio 40 mM; A: amplitud en gramos (g); TD: tiempo de retardo en segundos (s); τ: constante de tiempo en segundos (s); MRTexp: tiempo promedio de la respuesta entera exponencial (s); 2CM,7P y 3CM,10P: modelos matemáticos de ajuste del desarrollo de tensión transitoria contráctil isométrica, con ventana de ajuste desde una línea de base pasando por el inicio de la intervención con KCl (Tensión[On]), a base de: dos componentes (dos TD) en los siete parámetros (biexponencial), y de tres componentes (tres TD) en los 10 parámetros (triexponencial), respectivamente. 1, 2, y 3: números que corresponden a las fases uno (rápida), dos (moderadamente rápida) y tres (lenta) respectivamente de la Tensión[On]; A₀: línea de base; A_{total}: amplitud total; A₁/A_{tot}, A₂/A_{tot}, y A₃/A_{tot} son amplitudes de cada una de las tres fases ponderadas con la total.

n = 6 por grupo) y así 4Gs (n = 24): τ1 = 32.44 ± 15.3, τ2 = 138.11 ± 34.0 y τ3 = 294.00 ± 16.0.

Discusión

Modelación matemática

Se muestra por primera vez la evaluación de los modelos biexponencial y triexponencial para evaluar el del mejor ajuste de la tensión de la CLMV, con el propósito de abordar con un enfoque cinético el estudio de la Tensión[On] inducida con KCl 40 mM, que despolariza

la membrana de la CMLV al causar la entrada de Ca²⁺ a través de CCOV que conducen a aumentos transitorios en la [Ca²⁺]_i, y con ello el desarrollo de tensión de la CMLV^{4-6,14,23,24}. Esto nos permitió por vez primera comprobar la capacidad cinética trifásica de los elementos contráctiles mediante el modelado exponencial.

Modelados biexponencial y triexponencial de la Tensión[On]

Como se esperaba, el modelo triexponencial en comparación con el biexponencial, ajustó

Figura 3. Orden cinético de la respuesta trifásica exponencial en términos de la duración en segundos de la constante de tiempo ($\Phi 1 \tau < \Phi 2 \tau < \Phi 3 \tau$), contenidas dentro de la tensión experimental entera transitoria contráctil isométrica (Tensión[On]) inducida con cloruro de potasio (KCl) 40 mM en grupos de ratas macho de diferentes edades en semanas. El tamaño de cada grupo es $n = 6$. Los símbolos de barra y su línea vertical sobre ella son el promedio $\pm$ desviación estándar de cada grupo. La misma letra por triplicado representa diferencias objetivas ($p < 0.05$) entre las τ de la respuesta trifásica ($\tau 1 < \tau 2 < \tau 3$) distinguida con el modelo matemático exponencial empírico de tres componentes y diez parámetros (3CM,10P, triexponencial) de mejor ajuste fisiológico y estadístico de los datos experimentales (Tensión[On]) a KCl 40 mM). $\Phi 1 \tau$, $\Phi 2 \tau$ y $\Phi 3 \tau$ son las fases rápida, moderadamente rápida y lenta respectivamente. 1, 2 y 3 son el número de Φ . La cinética de cada una de estas tres fases no fue estadísticamente diferente entre grupos.

adecuadamente la Tensión[On] a KCl e identificó tres fases transitorias ($\Phi 1$, $\Phi 2$ y $\Phi 3$) postuladas con base en los eventos teóricos S1, S2 y S3⁸⁻¹⁰, cinéticamente distintas ($\tau 1 < \tau 2 < \tau 3$) en la CMLV arterial torácica que en teoría involucró de modo general a dichos eventos, por medio de la dinámica de la $[Ca^{2+}]_i$ durante la Tensión[On] transitoria.

Fases cinéticas entre modelos

La $\tau \Phi 1$ Tensión[On] (rápida) teóricamente pudo haber sido causada por el evento S1^{8,9}, pero sin pasar por la vía de transducción donde están los receptores de agonistas de unión como la FE^{4,8}. La moderadamente rápida ($\tau \Phi 2$ Tensión[On]) probablemente se debió al evento S2^{4,9}. La lenta sostenida ($\tau \Phi 3$ Tensión[On]) quizá pudo ser causada por el evento S3^{4,5,9,14} y procesos reguladores por el cambio de la

actividad de otras cinasas, como la ROC^{24,25}, y probablemente por el endotelio¹⁰. En cambio, el modelo biexponencial al traslapar las dos últimas fases de la Tensión[On] mostró una cinética bastante lenta y sin sentido fisiológico²⁵. El modelo triexponencial ajustó fisiológica y estadísticamente mejor sobre la base del conocimiento teórico actual de la contracción en la CMLV^{4,5,8-10,14} y de la prueba de Fisher¹⁵ respectivamente, la Tensión[On] experimental a KCl en 4Gs.

Fases cinéticas del modelo triexponencial entre grupos

El que solo la A2 fuera mayor en el grupo adulto (excepto el joven) comparado con el grupo prepuberal, parecería indicar teóricamente que solo el evento S2^{9,24} fue afectado en general por lo edad; una menor ganancia del sistema AoTx en la adultez^{11,13,17} por un mecanismo a determinar relacionado con la dinámica del calcio⁹. Una cinética (τ , s) trifásica exponencial de la Tensión[On] inducida con KCl de 4Gs independiente de la edad comprendida entre la prepuberal y la adultez significa que en este periodo de crecimiento y desarrollo en las ratas Wistar macho no cambió ninguno de los eventos teóricos⁸⁻¹⁰ y por eso tampoco fue afectada su cinética en ninguna de sus fases la Tensión[On] AoTx. Esto pudiera estar marcadamente influenciado por la propia dinámica del Ca^{2+} ²³⁻²⁵.

Conclusión

La tensión transitoria de la contracción isométrica inducida con KCl a una concentración de 40 mM de la aorta torácica de ratas Wistar macho jóvenes prepuberales y prepuberales (prepuberales), así como de jóvenes adultas y adultas (adultas) fue de cinética trifásica exponencial, pero no fue dependiente de la edad.

Financiamiento

La presente investigación no ha recibido ayudas específicas provenientes de agencias del sector público, sector comercial o entidades sin ánimo de lucro.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses alguno.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron a las normas éticas del comité de experimentación humana responsable y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Bibliografía

1. Fiala D, Psikuta A, Jendritzky G, Paulke S, Nelson DA, Lichtenbelt WD, Frijs AJ. Physiological modeling for technical, clinical and research applications. *Front Biosci (Schol Ed)*. 2010;2:939-68.
2. Lee CH, Poburko D, Kuo KH, Seow CY, van Breemen C. Ca^{2+} oscillations, gradients, and homeostasis in vascular smooth muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002;282:H1571-H1583.
3. Himpens R, Missiaen L, Casteels R. Ca^{2+} homeostasis in vascular smooth muscle. *J Vasc Res*. 1995;32:207-19.
4. Ratz PH, Berg KM, Urban NH, Miner AS. Regulation of smooth muscle calcium sensitivity: KCl as a calcium-sensitizing stimulus. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2005;288:C769-C783.
5. Sato K, Ozaki H, Karaki H. Multiple effects of caffeine on contraction and cytosolic free calcium levels in vascular smooth muscle of rat aorta. *Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol*. 1988;338:443-8.
6. Sanders KM. Invited review: mechanisms of calcium handling in smooth muscles. *J Appl Physiol*. 2001;91:1438-49.
7. Padilla J, Castillo MDeC, Guevara G, López J, Castillo C. Fast age-related on-transient contraction kinetics during α 1-adrenergic phenylephrine stimulation in rat thoracic aorta artery. *Experimental Biology 2009. Late breaking abstracts*. LB386, FASEB J 2009.
8. Hurwitz L. Pharmacology of calcium channels and smooth muscle. *Am Rev Pharmacol Toxicol*. 1986;26:225-58.
9. Karaki H, Ozaki H, Hori M, Mitsui-Saito M, Amano KI, Harada KI, et al. Calcium movements, distribution, and functions in smooth muscle. *Pharmacol Rev*. 1997;49:157-230.
10. Sierra-Ramírez A, Morato T, Campos R, Rubio I, Calzada C, Méndez E, et al. Acute effects of testosterone on intracellular Ca^{2+} kinetics in rat coronary cells are exerted via aromatization to estrogens. *Am J Heart Circ Physiol*. 2004;286:H63-H71.
11. Hsu TL, Chao PT, Hsiu H, Wang WK, Li SP, Wang YYL. Organ-specific ligation-induced changes in harmonic components of the pulse spectrum and regional vasoconstrictor selectivity in Wistar rats. *Exp Physiol*. 2006;91:163-70.
12. World Health Organization. Principles for evaluating chemical effects on the aged population. Ginebra, Suiza: World Health Organization; 1993.
13. Goyal KK. Changes with age in the aorta of man and mouse. *Exp Gerontol*. 1982;17:127-32.
14. Ratz PH, Miner AS. Muscle calcium sensitization and feedback control of cellular calcium levels role of protein kinase $\text{C}\zeta$ and calcium entry in KCl-induced vascular smooth muscle calcium sensitization and feedback control of cellular calcium levels. *J Pharmacol Exp Ther*. 2009;328(2):399-408.
15. Motulsky HJ, Ransnas A. Fitting curves to data using nonlinear regression: a practical and nonmathematical review. *FASEB J*. 1987;1:365-74.
16. Castillo EF, Castillo C, Valencia I, Hernández D, Castillo MC, Frías S, et al. The actions of α -methylnorepinephrine on the rat aorta. *Proc West Pharmacol Soc*. 1996;39:33-5.
17. Baker HJ, Russel LJ, Weisbroth SH. The laboratory rat. Vol. 1 Biology and diseases. New York: Academic Press; 1993.
18. Padilla JP, Kowalchuk JM, Taylor AW, Paterson DH. Comparison of model estimates of phase two on-transient O_2 uptake kinetics during submaximal exercise in old men. *Rev Hosp Juárez Méx*. 2008;75:151-65.
19. Cruz-Domínguez MP, Villalobos-Molina R, Miliar-García A, Montes-Cortez DH, Reséndiz-Ramírez AC, Asbun-Bojalil J, et al. Evidence of α 1-adrenoceptor functional changes in omental arteries of patients with end-stage renal disease. *Auton Autac Pharmacol*. 2008;28:19-27.
20. Padilla JP, Kowalchuk JM, Taylor AW, Paterson DH. Determinación de la cinética de la fase dos transitoria de la VO_2 durante ejercicio de carga constante de intensidades moderada e intensa en hombres jóvenes. *Rev Hosp Juárez Méx*. 2007;74:231-44.
21. Padilla JP, Kowalchuk JM, Taylor AW, Paterson DH. Phase two on-transient O_2 kinetics is slow age-related during submaximal exercise in adult men. *Rev Hosp Juárez Méx*. 2008;75:166-82.
22. Zar JH. Biostatistical analysis. New Jersey: Prentice Hall; 1996.
23. Arner A, Pfitzer G. Regulation of cross-bridge cycles by Ca^{++} in smooth muscle cells. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*. 1998;134:63-146.
24. Di Salvo J, Pfitzer G, Semenchuk LA. Protein tyrosine phosphorylation, cellular Ca^{2+} , and Ca^{2+} sensitivity for contraction of smooth muscle. *Can J Physiol Pharmacol*. 1994;72:1434-9.
25. Kuriyama H, Kitamura K, Itoh T, Inoue R. Physiological features of visceral smooth muscle cells, with special reference to receptors and ion channels. *Physiol Rev*. 1998;78:811-920.