



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS “DR. IGNACIO  
CHÁVEZ”**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD**

**TESIS:**

**EFFECTO DE LA EXPOSICIÓN SUBAGUDA Y CRÓNICA A TOLUENO EN  
LA RESPUESTA VASCULAR ADRENÉRGICA EN RATAS DIABÉTICAS**

**PRESENTA**

**Q.F.B. LENNIN TAPIA HERNÁNDEZ**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE MAESTRO EN CIENCIAS DE LA SALUD**

**DIRECTORA DE TESIS: D. en C. MARCIA YVETTE GAUTHEREAU  
TORRES**

**CODIRECTOR DE TESIS: D. en C. DANIEL GODÍNEZ HERNÁNDEZ**

**D. EN C. JOSÉ MIGUEL CERVANTES ALFARO**

**D. EN C. BERTHA FENTON NAVARRO**

**D. EN C. PATRICIA RÍOS CHÁVEZ**

**MORELIA MICH. SEPTIEMBRE 2023**

La Maestría en Ciencias de la Salud de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo pertenece al Sistema Nacional de Posgrados del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnología (CONAHCYT).

Durante el proceso se contó con la beca otorgada por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias, y Tecnología, durante el periodo 2021-2023 No. De Becario: 793104 CVU:1105182 Matrícula: 1419501B

La parte experimental se realizó en la Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo, Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez”, División de Estudios de Posgrado, Laboratorio de Farmacodependencia a cargo de la D. en C. Marcia Yvette Gauthereau Torres y en el Laboratorio de Farmacología del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas a cargo del D. en C. Daniel Godínez Hernández.

Morelia, Michoacán, México.



## Agradecimiento

A mis asesores la D. en C. Marcia Yvette Gauthereau Torres y el D. en C. Daniel Godínez Hernández, por el conocimiento y las enseñanzas brindadas durante este período.

A mis sinodales

D. en C. José Miguel Cervantes Alfaro

D. en C. Bertha Fenton Navarro

D. en C. Patricia Ríos Chávez

A mis padres Pedro Tapia y Berenice Hernández por su apoyo incondicional, comprensión y brindándome todo para que pueda cumplir esta meta.

A mi esposa Karla Campos por ser mi motivo de inspiración y mi compañera de vida que me apoya en todo lo que haga.

A mis compañeros de generación que me apoyaron durante esas buenas crisis y anécdotas que nunca olvidaré.

## Contenido

<b>1</b>	<b>Índice de figuras</b> .....	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>Índice de tablas</b> .....	<b>8</b>
<b>3</b>	<b>Lista de abreviaturas</b> .....	<b>10</b>
<b>4</b>	<b>Resumen</b> .....	<b>11</b>
<b>5</b>	<b>Abstract</b> .....	<b>13</b>
<b>6</b>	<b>Introducción</b> .....	<b>15</b>
<b>7</b>	<b>Marco teórico</b> .....	<b>18</b>
7.1	Inhalables.....	18
7.1.1	Definición de inhalables .....	18
7.1.2	Clasificación de los inhalables .....	18
7.2	Datos epidemiológicos .....	19
7.3	Uso de inhalables .....	20
7.4	Tolueno .....	21
7.5	Farmacocinética.....	21
7.6	Mecanismos de acción del tolueno .....	22
7.6.1	Mecanismo de acción. Efectos agudos .....	22
7.6.2	Mecanismo de acción. Efectos subcrónicos y crónicos .....	23
7.7	Efectos cardiacos del tolueno .....	23
7.8	Diabetes mellitus.....	24
7.9	Diabetes y tolueno.....	25
7.10	Receptores adrenérgicos alfa 1 .....	28
7.11	Modulación de los receptores adrenérgicos .....	30
7.12	Diabetes, tolueno y receptores adrenérgicos .....	32
<b>8</b>	<b>Justificación</b> .....	<b>34</b>
<b>9</b>	<b>Hipótesis</b> .....	<b>36</b>
<b>10</b>	<b>Objetivos</b> .....	<b>36</b>
10.1	Objetivo general.....	36
10.2	Objetivos específicos .....	36
<b>11</b>	<b>Materiales y métodos</b> .....	<b>37</b>
11.1	Animales .....	37
11.2	Sustancias utilizadas.....	37
11.3	Aspectos éticos.....	37

11.4	Grupos experimentales.....	37
11.5	Inducción de diabetes .....	38
11.6	Exposición a tolueno .....	38
11.7	Contracción de aorta aislada .....	39
11.8	Estrategia experimental .....	41
<b>12</b>	<b>Resultados .....</b>	<b>43</b>
12.1	Exposición subaguda a tolueno.....	43
10.2	Exposición crónica a tolueno.....	50
10.3	Análisis de efectos máximos y valores de afinidad (pK <sub>B</sub> ).....	58
10.3.1	Estimulación con fenilefrina en aortas con endotelio de los grupos de exposición subaguda .....	58
10.3.2	Estimulación con fenilefrina en aortas sin endotelio de los grupos de exposición subaguda .....	59
10.3.3	Estimulación con fenilefrina en aortas con endotelio de los grupos de exposición crónica .....	60
10.3.4	Estimulación con fenilefrina en aortas sin endotelio de los grupos de exposición crónica .....	60
10.4	Comparación de los efectos en la contracción vascular de los anillos de aorta de los grupos de exposición subaguda vs crónica.....	62
10.4.1	Comparación de los anillos de aorta con endotelio (exposición subaguda vs crónica) .....	62
10.4.2	Comparación de los anillos de aorta sin endotelio (exposición subaguda vs crónica) .....	66
10.4.3	Comparación de los efectos máximos de la contracción de los anillos de aorta con endotelio de los grupos de exposición subaguda y crónica .....	70
10.4.4	Comparación de los efectos máximos de la contracción de los anillos de aorta sin endotelio de los grupos de exposición subaguda y crónica .....	71
<b>10</b>	<b>Discusión.....</b>	<b>72</b>
<b>11</b>	<b>Conclusiones .....</b>	<b>80</b>
<b>12</b>	<b>Perspectivas.....</b>	<b>80</b>
<b>13</b>	<b>Referencias .....</b>	<b>81</b>

# 1 Índice de figuras

Figura 1 Estructura del tolueno .....	21
Figura 2 Posible mecanismo de resistencia a la insulina por hidrocarburos monocíclicos aromáticos.....	27
Figura 3 Representación del mecanismo por el cual el TNF genera resistencia a la insulina .....	28
Figura 4 Representación clásica de la señalización de receptores acoplados a proteínas Gq.....	29
Figura 5 Diferentes receptores adrenérgicos en células y funciones.....	30
Figura 6 Expresión de receptores adrenérgicos $\alpha 1D$ en la membrana celular.....	31
Figura 7 Modelo de función propuesta para la glicosilación N-terminal en la biosíntesis de los receptores adrenérgicos $\alpha 1D$ .....	32
Figura 8 Curvas concentración-respuesta a fenilefrina en la exposición subaguda (con y sin endotelio).....	44
Figura 9 Curvas concentración-respuesta para el efecto del BMY 7378 sobre la contracción de la aorta (con y sin endotelio) inducida por concentraciones crecientes de fenilefrina en ratas control.....	46
Figura 10 Curvas concentración-respuesta para el efecto del BMY 7378 sobre la contracción de la aorta con endotelio y sin endotelio inducida por concentraciones crecientes de fenilefrina en ratas expuestas a 6000 ppm de tolueno (exposición subaguda) .....	47
Figura 11 Curvas concentración-respuesta para el efecto del BMY 7378 sobre la contracción de la aorta (con y sin endotelio) inducida por concentraciones crecientes de fenilefrina en ratas inducidas a diabetes (exposición subaguda) .....	48
Figura 12 Curvas concentración-respuesta para el efecto del BMY 7378 sobre la contracción de la aorta (con y sin endotelio) inducida por concentraciones crecientes de fenilefrina en ratas diabéticas expuestas a 6000 ppm de tolueno de manera subaguda....	49
Figura 13 Pesos de los animales (g) .....	50
Figura 14 Curvas de concentraciones de glucosa (mg/dl) .....	51
Figura 15 Curvas concentración-respuesta a fenilefrina de los diferentes grupos de manera crónica .....	52
Figura 16 Curvas concentración-respuesta para el efecto del BMY 7378 sobre la contracción de la aorta (con y sin endotelio) inducida por concentraciones crecientes de fenilefrina en ratas control.....	54
Figura 17 Curvas concentración-respuesta para el efecto del BMY 7378 sobre la contracción de la aorta con endotelio y sin endotelio inducida por concentraciones crecientes de fenilefrina en ratas expuestas a 6000 ppm de tolueno de manera crónica ..	55
Figura 18 Curvas concentración-respuesta para el efecto del BMY 7378 sobre la contracción de la aorta (con y sin endotelio) inducida por concentraciones crecientes de fenilefrina en ratas inducidas a diabetes (exposición crónica) .....	56
Figura 19 Curvas concentración-respuesta para el efecto del BMY 7378 sobre la contracción de la aorta (con y sin endotelio) inducida por concentraciones crecientes de fenilefrina en ratas diabéticas expuestas a 6000 ppm de tolueno de manera crónica .....	57

Figura 20 Curva concentración-respuesta a fenilefrina, de la comparación de tensión de los anillos de aorta con endotelio del grupo de ratas control expuestos a aire (exposición subaguda y crónica).....	62
Figura 21 Curva concentración-respuesta a fenilefrina, de la comparación de tensión de los anillos de aorta con endotelio del grupo de ratas expuestos a 6000 ppm de tolueno de manera subaguda y crónica.....	63
Figura 22 Curva concentración-respuesta a fenilefrina, de la comparación de tensión de los anillos de aorta con endotelio del grupo de ratas diabéticas (exposición subaguda y crónica).....	64
Figura 23 Curva concentración-respuesta a fenilefrina, de la comparación de tensión de los anillos de aorta con endotelio del grupo de ratas diabéticas expuestos a 6000 ppm de tolueno de manera subaguda y crónica. ....	65
Figura 24 Curva concentración-respuesta a fenilefrina, de la comparación de tensión de los anillos de aorta sin endotelio del grupo de ratas control expuestos a aire (exposición subaguda y crónica).....	66
Figura 25 Curva concentración-respuesta a fenilefrina, de la comparación de tensión de los anillos de aorta sin endotelio del grupo de ratas expuestos a 6000 ppm de tolueno de manera subaguda y crónica.....	67
Figura 26 Curva concentración-respuesta a fenilefrina, de la comparación de tensión de los anillos de aorta sin endotelio del grupo de ratas diabéticas (exposición subaguda y crónica).....	68
Figura 27 Curva concentración-respuesta a fenilefrina, de la comparación de tensión de los anillos de aorta con endotelio del grupo de ratas diabéticas expuestos a 6000 ppm de tolueno de manera subaguda y crónica. ....	69

## 2 Índice de tablas

Tabla 1. Peso (g) y glucosa (mg/dl) de las ratas no diabéticas al administrar buffer de citrato y una semana después de la administración. Los datos se expresan como el promedio $\pm$ e.e. de n=6.....	43
Tabla 2. Peso (g) y glucosa (mg/dl) de las ratas diabéticas al administrar estreptozotocina y una semana después de la administración. Los datos se expresan como el promedio $\pm$ e.e. de n=6. ....	43
Tabla 3. Efectos máximos en los anillos de aorta con endotelio en los grupos de exposición subaguda. ....	58
Tabla 4 Valores de afinidad ( $pK_B$ ) de las curvas concentración respuesta a fenilefrina con presencia de BMY 7378 en los anillos de aorta con endotelio en los grupos de exposición subaguda.....	58
Tabla 5.Efectos máximos en los anillos de aorta sin endotelio en los grupos de exposición subaguda.....	59
Tabla 6. Valores de afinidad ( $pK_B$ ) de las curvas concentración respuesta a fenilefrina con presencia de BMY 7378 en los anillos de aorta sin endotelio en la exposición subaguda.	59
Tabla 7. Efectos máximos en los anillos de aorta con endotelio en los grupos de exposición crónica.....	60

Tabla 8. Valores de afinidad ( $pK_B$ ) de las curvas concentración respuesta a fenilefrina con presencia de BMY 7378 en los anillos de aorta con endotelio en los grupos de exposición crónica. ....	60
Tabla 9. Efectos máximos en los anillos de aorta sin endotelio de los grupos de exposición crónica. ....	61
Tabla 10. Valores de afinidad ( $pK_B$ ) de las curvas concentración respuesta a fenilefrina con presencia de BMY 7378 en los anillos de aorta sin endotelio en los grupos de exposición crónica.....	61
Tabla 11. Comparación de los efectos máximos de las curvas concentración respuesta a fenilefrina en los anillos de aorta con endotelio en la exposición subaguda y exposición crónica.....	70
Tabla 12. Comparación de los efectos máximos de las curvas concentración respuesta a fenilefrina en los anillos de aorta sin endotelio en la exposición subaguda y exposición crónica.....	71

### 3 Lista de abreviaturas

Diabetes mellitus	DM
Diabetes mellitus 1	DM1
Diabetes mellitus 2	DM2
Estreptozotocina	STZ
Dopamina	DA
Ácido gamma-aminobutírico	GABA
Receptores acoplados a proteína G	RAPG
Receptores adrenérgicos	RA
Factor de Necrosis Tumoral Alfa	TNF- $\alpha$
Concentración efectiva 50	CE <sub>50</sub>
Afinidad (expresado como -Log pA2)	pK <sub>B</sub>
Diacilglicerol	DAG
Inositol trifosfato	IP3
Proteína cinasa A	PKA
Sistema Nervioso Central	SNC
Efecto máximo	E <sub>max</sub>

## 4 Resumen

El uso recreativo de los inhalables es un grave problema de salud que afecta principalmente a los adolescentes. El consumo de inhalables llega a provocar diversos problemas de salud, como lo es daño renal, daño cardiovascular, arritmias, muerte súbita por inhalación, entre otros, siendo el tolueno una de las sustancias con mayor presencia en los productos comerciales. Por otro lado, la diabetes mellitus es una de las principales enfermedades de mayor incidencia y muerte en México. La diabetes mellitus puede generar complicaciones, como lo son afecciones renales, cardíacas, hepáticas, entre otras. Los receptores adrenérgicos están presentes en diversas cantidades en los tejidos, incluyendo el corazón, los vasos sanguíneos y los riñones. Las funciones de los receptores adrenérgicos van desde la regulación del metabolismo, el cronotropismo, el inotropismo y la vasoconstricción. Con base en lo anterior, se propone el presente trabajo, ya que se desconocen los efectos que se pueden producir sobre la función adrenérgica en la aorta de ratas diabéticas expuestas a tolueno. El objetivo de este proyecto fue determinar el efecto de la exposición subaguda y crónica a tolueno sobre la respuesta vascular adrenérgica en ratas con diabetes mellitus. Se emplearon 8 grupos de ratas macho Wistar de 8-9 semanas de edad, de los cuales dos grupos fueron control; a dos grupos se les indujo diabetes; a dos grupos se les indujo diabetes y fueron expuestos a 6000 ppm de tolueno de forma subaguda o crónica y dos más fueron expuestos a 6000 ppm de tolueno de forma subaguda o crónica sin tener diabetes. Se utilizaron cámaras de exposición estática para exponer a los animales a tolueno o a aire. Una vez concluido el tiempo de exposición se les aisló la aorta, la cual fue sometida a contracción en un equipo para órgano aislado. Con una  $n=6$  para cada grupo se midió el cambio de tensión de las aortas con y sin endotelio y se elaboraron curvas concentración-respuesta a fenilefrina, donde se observó un aumento de la tensión dependiente de la concentración, hasta alcanzar un efecto máximo. Se realizó un análisis de varianza de dos vías (ANOVA) con una prueba post hoc (Tukey) y se obtuvieron los valores de  $p_K$  (valor de afinidad). Para los resultados de la exposición subaguda en anillos de aorta con endotelio no existió diferencia cuando se realizó la comparación entre los grupos ( $p=0.49$ ) y de igual forma sucedió con la comparación de los grupos de anillos de aorta sin endotelio ( $p=0.07$ ), siendo el grupo diabetes el que tuvo mayor tensión, mientras que para la comparación de los diferentes grupos en la exposición crónica en anillos de aorta con endotelio se observó mayor tensión en el grupo diabetes expuesto a tolueno ( $p=0.05$ ); mientras que para la comparación de grupos de aortas sin endotelio el grupo expuesto a tolueno tuvo mayor tensión ( $p=0.04$ ). Se repitieron las curvas concentración respuesta a fenilefrina en presencia de BMY 7378, antagonista selectivo para los receptores adrenérgicos  $\alpha_{1D}$ , para determinar la participación de estos receptores en la respuesta vascular en los diferentes grupos. Se observó que existe participación de los receptores  $\alpha_{1D}$ , pero no se ve aumentada la participación en ninguno de los grupos. De igual forma se realizó una comparación entre las curvas concentración respuesta de la exposición subaguda y la exposición crónica, donde se observó una disminución ( $p<0.05$ ) en el grupo diabético crónico de aortas con endotelio, de igual forma se observó un aumento en la tensión ( $p<0.05$ ) en el grupo de aortas sin endotelio de ratas expuestas a tolueno de manera crónica y una disminución de tensión en el grupo diabético crónico de aortas sin endotelio cuando fue comparado con el grupo diabético subagudo. Los resultados sugieren que el endotelio ejerce una acción vaso moduladora en la exposición subaguda en los experimentos de aortas con endotelio, mientras que la exposición crónica a tolueno

genera un aumento en la respuesta vascular adrenérgica en ratas, lo cual se sugiere que se debe a un daño endotelial.

Palabras clave: Tolueno, diabetes, receptores adrenérgicos

## 5 Abstract

The recreational use of inhalants is a serious health problem that mainly affects adolescents. Inhalants can cause various health problems, such as kidney damage, cardiovascular damage, arrhythmias, sudden sniffing death, among others, with toluene being one of the substances with the greatest presence in commercial products. On the other hand, diabetes mellitus is one of the main diseases with the highest incidence and death in Mexico. Diabetes mellitus can generate complications, such as kidney, heart, and liver diseases. Adrenergic receptors are present in varying amounts in tissues, including heart, blood vessels, and kidneys. Adrenergic receptor functions range from regulation of metabolism, chronotropism, inotropism, and vasoconstriction. Based on the above, it was proposed the present investigation, since the effects produced on adrenergic function in the aorta of diabetic rats exposed to toluene are unknown. Therefore, this work aimed to determine the effect of subacute and chronic toluene exposure on the adrenergic vascular response in rats with diabetes mellitus. Eight groups of male Wistar rats of 8-9 weeks of age were used, two groups were controls; two groups were induced to diabetes; two groups were induced to diabetes and were exposed to 6000 ppm of toluene in a subacute or chronic manner and two groups were exposed to 6000 ppm of toluene in a subacute or chronic manner without having diabetes. Static exposure chambers were used to expose animals to toluene or air. After the exposure time, aorta was isolated, and it was subjected to contraction in an isolated organ equipment., Tension changes in aortas with and without endothelium (n=6 for each group) were measured and concentration-response curves to phenylephrine were elaborated, where a concentration-dependent increase in tension was obtained, until reaching a maximum effect. A two-way analysis of variance (ANOVA) with a post hoc test (Tukey) were performed and  $pK_B$  values (affinity value) were obtained. The results showed that, in subacute exposure in aorta rings with or without endothelium, there were no differences when the comparison was made between the groups ( $p=0.49$  and  $p=0.07$ , respectively) (), with the diabetes group in aorta rings without endothelium having the highest tension. On the other hand, when the comparison of the different groups in chronic exposure in aorta rings with endothelium was made, the greatest tension was observed in the diabetes group exposed to toluene ( $p=0.05$ ); while for the comparison of groups without endothelium, the group exposed to toluene had the highest tension ( $p=0.04$ ). Concentration-response curves to phenylephrine were made in the presence of BMY 7378, a selective antagonist for  $\alpha_1D$  adrenergic receptors, to determine the participation of these receptors in the vascular response in the different groups. It was observed that there is a participation of  $\alpha_1D$  receptors, but the participation does not increase in any of the groups. In addition, a comparison was made between the concentration-response curves of subacute and chronic exposure, where a decrease ( $p<0.05$ ) was observed in the chronic diabetic group in aorta rings with endothelium, in the same way an increase in tension ( $p<0.05$ ) was observed in the group of aorta rings without endothelium of rats chronically exposed to toluene and a decrease in tension in aorta rings without endothelium of the chronic diabetic group when compared with the subacute diabetic group. The results suggest that endothelium exerts a vasomodulatory action in the experiments of aortas with endothelium from subacute exposure, and chronic toluene

exposure generates an increase in the adrenergic vascular response in rats, which is suggested to be due to endothelial damage.

Key words: Toluene, diabetes, adrenergic receptors.

## 6 Introducción

El empleo de los inhalables de forma recreativa es un claro ejemplo del mal uso de sustancias químicas de fácil acceso. Los inhalables son sustancias químicas líquidas o gaseosas que a temperatura ambiente son volátiles, siendo el tolueno el principal hidrocarburo inhalable utilizado para generar efectos psicoactivos. Estas sustancias inhalables están presentes como componentes en algunos productos, tanto industriales como de uso cotidiano, tales como: pegamentos, pinturas, combustibles, resinas, limpiadores, disolventes, “thinner”, desengrasantes, etc. Otras sustancias que también son usadas como inhalables de manera recreativa son los gases, como el óxido nitroso (gas de la risa), teniendo un uso principalmente médico (Jayanth et al., 2017). Los inhalables son considerados uno de los grupos de drogas de abuso más populares entre niños, adolescentes y adultos. El alto consumo de estos productos está ligado a que son legales, muy fáciles de conseguir y son relativamente baratos en comparación a otras drogas (Bowen et al., 2016; Kalayasiri & Maes, 2016).

Con base en los datos epidemiológicos recopilados por la ENCODAT (Encuesta Nacional de Consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco, 2016), se manifiesta que en los últimos años ha existido un aumento considerable en cuanto al uso y abuso de diferentes drogas, tanto legales como ilegales. Los inhalables se encuentran dentro de los primeros lugares de consumo en México, lo cual se debe a diferentes factores que aumentan la disponibilidad de estas sustancias (Gigengack, 2014). Existen estudios que manifiestan que la edad promedio del uso de inhalables es de 13 años; sin embargo, se han encontrado consumidores desde los 6 a 8 años, lo cual representa un grave problema de salud pública (Tulsidas, 2010; ENCODAT, 2016).

El consumo de inhalables tiene efectos agudos y crónicos, dañando diversos órganos en el cuerpo humano (cerebro, médula ósea, corazón, pulmones, hígado y riñones). Los efectos incluyen depresión del SNC, lesiones traumáticas, arritmias, asfixia, síndrome de muerte súbita por inhalación y problemas psicológicos (Kalayasiri y Maes, 2016; Prayulsatien, 2013).

Los disolventes, como el tolueno, pueden inhibir algunos canales iónicos cardiacos, como es el caso de los canales de sodio dependientes de voltaje. La inhibición de dichos canales puede presentarse de diferente manera dependiendo de la concentración con la que se tenga el contacto con los disolventes, pudiendo participar en la generación de arritmias cardiacas y muerte súbita por inhalación (Cruz et al., 2003; Gauthereau et al., 2005).

Por otro lado, la diabetes mellitus es una de las enfermedades crónicas no contagiosas con mayor incidencia en México (Basto-Abreu, 2021). La diabetes mellitus puede llegar a generar muchas complicaciones en diversos órganos, como lo son las complicaciones renales, cardiacas, vasculares, entre otras. Existen diferentes tipos de diabetes, donde las más comunes entre la población son la diabetes mellitus tipo 1, que se caracteriza por una deficiencia absoluta de insulina y la diabetes mellitus tipo 2, caracterizada por una resistencia a la insulina (American Diabetes Association, 2020).

Las afecciones cardiovasculares (enfermedad coronaria del corazón, falla del corazón e infarto) son de las principales consecuencias de la diabetes mellitus (Einarson et al., 2018; Vasiliadis et al., 2014), donde la diabetes confiere 2.3 veces más probabilidad de sufrir el riesgo de enfermedades

cardiovasculares. De las personas que padecen diabetes, el 30% muere de enfermedades cardiovasculares (Benjamin et al., 2019; Chan et al., 2020).

Además, existen datos que indican que el abuso de inhalables, como el tolueno, por parte de adolescentes, llega a generar una inestabilidad energética y metabólica (Dick et al., 2015).

Por lo anterior, en este trabajo se analizó el efecto del tolueno en la respuesta vascular adrenérgica en la aorta de ratas adolescentes con diabetes mellitus, en comparación con ratas adolescentes no diabéticas.

## 7 Marco teórico

### 7.1 Inhalables

#### 7.1.1 Definición de inhalables

Los inhalables son un grupo de drogas, de fácil acceso, baratas y de venta legal. Las sustancias inhaladas son gases o líquidos volátiles a temperatura ambiente, que comúnmente contienen tolueno y se inhalan con el propósito de obtener un efecto psicoactivo. La mayoría de las sustancias que son inhaladas son inflamables y tóxicas; de igual manera la venta libre no controlada y legal facilita su consumo (Thiesen., 2007). Estas sustancias químicas se encuentran en el mercado en forma de disolventes, combustibles, gases anestésicos, nitritos de alquilo y aerosoles (Lim et al., 2014; Dick et al., 2015).

#### 7.1.2 Clasificación de los inhalables

La clasificación de los diferentes tipos de inhalables está dada a partir de las características que tiene cada una de las sustancias químicas. Existen varios principios en los cuales se basan las clasificaciones, como son: la clasificación química basada principalmente en la estructura del agente químico; la apariencia del agente químico; las propiedades farmacológicas que posee el inhalable; y la función del producto que será utilizado, como el caso de los combustibles, anestésicos, aditivos, aerosoles, etc. (Balster *et al.*, 2009; Filley, 2013).

- Los disolventes orgánicos son los principales inhalables que se encuentran presentes en los diversos productos, como pinturas, desengrasantes, “thinner”, combustibles, aditivos, tintes y otros (Monteiro et al., 2014). El disolvente orgánico de mayor presencia en estos productos es el tolueno. El tolueno está dentro de la clasificación química de hidrocarburos aromáticos, junto con el benceno, el etilbenceno, el propilbenceno, el xileno

y el isopropilbenceno. Otros disolventes orgánicos hidrocarbonados que son utilizados en los diversos productos comerciales son el hexano, el ciclohexano y el 1,1,1-tricloroetano (Lim et al., 2014).

- Aerosoles, gases y anestésicos volátiles. Algunos de los inhalables de esta clasificación tienen diversas características y pueden incluirse en distintos grupos de clasificación a la vez. Los aerosoles son agentes químicos que tienen forma líquida o sólida nebulizados en el aire. Los aerosoles que están presentes en el mercado son pinturas en spray, sprays para el tratamiento del cabello, limpiadores de computadoras, entre otros (Baydala, 2010). Estos productos son liberados de latas mediante válvulas, en los cuales los agentes químicos son liberados por gases comprimidos (Cruz y Bowen, 2021).
- Los nitritos de alquilo o “poppers”, como son conocidos entre los consumidores, son inhalados de forma recreativa principalmente para mejorar la experiencia sexual (Le et al., 2020). Los nitritos de alquilo más comunes son los amil-, butil-, isobutil- e isopropil-nitrito; estos se encuentran presentes en ambientadores y odorizantes (Xiang et al., 2021). Este tipo de inhalables son utilizados principalmente entre los adolescentes de mayor edad y sexualmente activos, teniendo un mayor riesgo de contraer enfermedades de transmisión sexual (Bracchi., et al 2015; Giorgetti et al., 2017; Kalayasiri & Maes, 2016).

## 7.2 Datos epidemiológicos

El uso de los inhalables es un grave problema a nivel mundial, que muchas veces no es tomado en cuenta por la presencia de otras drogas de abuso a las que se les da mayor importancia. En México existen reportes del abuso de sustancias volátiles desde 1960 (Cruz & Domínguez, 2011). La prevalencia de las personas que usan inhalables respecto a la población en general es baja, lo que es preocupante es el sector de la población al que afectan los inhalables, ya que los niños y los adolescentes son los

principales consumidores de inhalables. (Cruz, 2018; Gigengack, 2016; Villatoro et al., 2011).

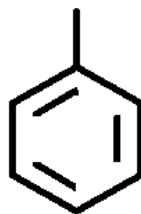
Los jóvenes de secundaria y preparatoria en México (masculinos 5.9% y femeninos 5.8%), al igual que los niños y jóvenes que trabajan y viven en la calle, son los que más consumen inhalables. De acuerdo con un estudio publicado en 2013 por el “Hospital de Especialidades Toxicológicas Venustiano Carranza”, en la Ciudad de México se observó que la edad donde existe un mayor consumo de inhalables es de 15 a 22 años de edad (Cruz, 2018).

### 7.3 Uso de inhalables

Los diferentes productos inhalables en el mercado contienen principalmente tolueno. Los productos inhalables son de fácil consumo, ya que no requieren el uso de agujas y no implican dolor. Estos productos son inhalados por vía nasal u oral. Los consumidores han generado diferentes técnicas para la inhalación de los disolventes, en algunos casos se humedece una tela con el disolvente y se inhala. Estas telas humedecidas con el agente químico se conocen como “monas” (Vega et al., 2015). Otra técnica para el uso de inhalables es en bolsas de plástico, donde se agrega el producto o disolvente para posteriormente inhalar directamente de la bolsa. Muchas veces se realiza el consumo directamente de las latas o contenedores de los productos, como lo es el caso de los pegamentos. El uso de las diferentes técnicas depende de la cantidad de producto que los individuos quieran llegar a consumir, ya que algunas formas de consumo requieren mayor cantidad de producto (Gigengack, 2016).

## 7.4 Tolueno

Tolueno



*Figura 1. Estructura del tolueno*

El tolueno es un disolvente líquido, incoloro, orgánico, volátil y flamable, que es usado principalmente en la industria para la fabricación de diversos productos. El tolueno es usado como droga de abuso debido a que al ser inhalado presenta propiedades psicoactivas. Su fórmula química es  $C_7H_8$ , siendo un hidrocarburo aromático con peso molecular de 92.13 g/mol. El tolueno es más ligero que el agua y tiene alta afinidad hacia los lípidos (Cruz et al., 2014).

## 7.5 Farmacocinética

El tolueno se inhala principalmente por vía nasal, aunque también puede ser inhalado o ingerido por vía oral, éste también puede ser inyectado por vía i.p. o por vía dérmica, aunque la mayoría de las vías causa irritación. El tolueno es absorbido a través de los pulmones, pero también puede ocurrir una absorción gastrointestinal y dérmica. Una vez que ha sido absorbido, el tolueno se difunde sobre todo en los órganos ricos en lípidos, rápidamente atravesando la barrera hematoencefálica y la placenta. El tolueno es metabolizado en el hígado a través de la enzima citocromo P450 a alcohol bencílico y éste es oxidado a ácido benzoico, el cual luego es conjugado con glicina para formar ácido hipúrico (Decharat, 2014; Peralta et al., 2012; Nakajima et al., 1997). El ácido hipúrico se puede disociar en aniones y protones, algunos de los aniones se unen al amoníaco, sodio y potasio,

siendo excretados a través de la orina, llegando a generar una acidosis metabólica (Baskerville et al., 2001; Cruz et al., 2014).

## 7.6 Mecanismos de acción del tolueno

Existen estudios que indican que el tolueno afecta diversos sistemas de neurotransmisión, incluyendo un aumento extracelular en las concentraciones de dopamina (DA) en la corteza prefrontal (Callan et al., 2017), actúa como modulador alostérico positivo aumentando el efecto de los receptores a ácido gamma-aminobutírico (GABA) y glicina, al igual que inhibe receptores ionotrópicos de glutamato; el tolueno también disminuye los canales de Na<sup>+</sup> y de Ca<sup>+2</sup> dependientes de voltaje involucrados en la excitabilidad neuronal (Carreón-Garcidueñas et al., 2018; Tillar et al., 2002), lo cual está en función de la concentración del tolueno (Cruz et al., 2014).

### 7.6.1 Mecanismo de acción. Efectos agudos

El tolueno inhibe los receptores ionotrópicos glutamatérgicos sensibles a N-metil- D-aspartato (NMDA), siendo más selectivo para el receptor GluN2B (Cruz et al., 1998). El tolueno también actúa como un modulador alostérico para receptores GABA<sub>A</sub> y glicina (Beckstead et al., 2000), aumentando la inhibición sináptica, inhibe receptores nicotínicos de acetilcolina, siendo los  $\alpha_4\beta_2$  los más sensibles al tolueno y además aumenta la función de los receptores 5-HT<sub>3</sub> (Bale et al., 2005; MacIver, 2009).

El tolueno también inhibe canales de sodio cardiacos y de músculo esquelético, canales de calcio dependientes de voltaje, canales de potasio rectificadores entrantes acoplados a proteína G y canales de potasio activados por calcio. Otro blanco molecular para el tolueno es la inhibición de las uniones Gap, llegando a provocar una comunicación intracelular menos eficiente (Gauthereau et al., 2005; Del Re & Woodward, 2005).

### 7.6.2 Mecanismo de acción. Efectos subcrónicos y crónicos

Los efectos subcrónicos y crónicos del tolueno dependen de la dosis, al igual que el tiempo de exposición al disolvente. La exposición a tolueno modifica específicamente algunas de las subunidades de los receptores GABA<sub>A</sub>, NMDA y AMPA en diferentes regiones del cerebro en ratas (Dick et al., 2015). El tolueno aumenta las concentraciones de receptores glutamatérgicos, específicamente las subunidades  $\alpha 1$ , GluN1, GluN2B y GluR2/3 en la corteza prefrontal, al igual que puede bloquear la habilidad de la dopamina (DA) para producir un potencial sináptico (Cruz et al., 2019).

### 7.7 Efectos cardiacos del tolueno

La inhalación de disolventes puede generar complicaciones cardiacas (Taş, U et al., 2013), llegando a dar lugar a arritmias cardiacas y muerte súbita por inhalación (Arslanet et al., 2018; Kramp et al., 2018; Darke et al., 2023); sin embargo, aún no está completamente claro el mecanismo por el cual esto llega a suceder (Camara-Lemarroy et al., 2015). Existen diversos estudios sugiriendo que los mecanismos de sobreestimulación incluyen la participación de los canales de sodio activados por voltaje, siendo estos los principales responsables de la despolarización de la membrana y la conducción del potencial de acción del corazón, junto con los canales de calcio. La inhibición de estos canales puede dar lugar a arritmias cardiacas (Carreón-Garcidueñas et al., 2018; Cruz et al., 2003).

Se sabe que la estimulación de receptores  $\beta$ -adrenérgicos lleva a un aumento en la contractilidad del corazón (Bencivenga et al., 2019), estando involucrados los canales de sodio y de calcio dependientes de voltaje, al igual que una elevación en las concentraciones de catecolaminas. Las catecolaminas también pueden actuar como vasoconstrictores de los vasos coronarios, causando muerte por arritmias. La inhalación de tolueno genera un incremento en la densidad de receptores  $\beta 1$  adrenérgicos y una

disminución en la expresión de canales de  $\text{Na}^+$  y de  $\text{Ca}^{+2}$ , lo cual puede llevar a la muerte súbita por inhalación (Carreón-Garcidueñas et al., 2018).

## 7.8 Diabetes mellitus

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónica que se presenta cuando el páncreas no produce suficiente insulina o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina que está produciendo. La diabetes mellitus está ligada a diversas consecuencias, siendo considerada como una enfermedad crónica no transmisible, afectando diversos órganos y produciendo daño renal, daño hepático y daño vascular, por mencionar algunos (Demir et al., 2021). De acuerdo con la Asociación Americana de Diabetes (ADA), la diabetes es clasificada en cuatro categorías, siendo necesaria esta clasificación para poder determinar una terapia específica:

Diabetes mellitus tipo 1 (DM1) o diabetes no metabólica, que es un tipo de diabetes generada a causa de una destrucción autoinmune de las células beta presentes en los islotes de Langerhans. La DM1 genera una deficiencia absoluta de insulina, por lo que es necesaria la obtención de ésta por medios externos (American Diabetes Association, 2020).

Diabetes mellitus tipo 2 (DM2) o diabetes metabólica, que es generada a causa de la resistencia a la insulina, debido a la ineficacia o mal funcionamiento en cuanto a la secreción de insulina de las células beta en los islotes de Langerhans (American Diabetes Association, 2020).

Diabetes mellitus gestacional (DG), que es un tipo de diabetes que se presenta en el segundo o tercer mes de gestación, que es generada a causa de cambios en las concentraciones hormonales (American Diabetes Association, 2020).

Diabetes generada por otras causas, como lo es el síndrome de diabetes monogénica (diabetes neonatal o MODY), enfermedades relacionadas con la función exocrina del páncreas (pancreatitis o fibrosis), uso de

medicamentos (glucocorticoides, tratamiento para VIH o SIDA) (American Diabetes Association, 2020).

Los diferentes tipos de diabetes pueden variar ampliamente entre sí, ya sea en sus manifestaciones clínicas o de acuerdo con la progresión de la enfermedad, por lo que es necesario un diagnóstico específico. Se habían considerado edades para cada uno de los diversos tipos de diabetes, donde la DM1 estaba ligada a edades tempranas, mientras que la DM2 estaba más relacionada a personas adultas, principalmente con trastornos metabólicos (American Diabetes Association, 2020).

En los últimos años, las edades no han sido un factor de riesgo para que un tipo de diabetes en específico pueda afectar a los individuos, ya que cada vez más personas jóvenes son afectadas por la DM2, siendo algunos de los factores la mala alimentación o la vida sedentaria. La DM1 también llega a afectar a los adultos, aunque en algunas ocasiones puede tener diferente sintomatología (Hernández et al., 2018; American Diabetes Association, 2020).

## 7.9 Diabetes y tolueno

En diversos artículos se habla de una relación entre el consumo de inhalables y la diabetes; la relación entre estos dos surge a partir de diversas causas. El inhalar tolueno causa pérdida de apetito en los consumidores, provoca un mayor gasto energético, genera una mayor disminución de la glucosa en sangre en ayunas que en las personas que no consumen inhalables, da lugar a una acidosis metabólica que induce a resistencia a la insulina, del mismo modo la acidosis aguda disminuye la utilización periférica de glucosa, genera una supresión de la gluconeogénesis inducida por una disminución de insulina, se lleva a cabo una extracción de glucosa por el hígado y el consumidor se ve inducido en un estado de hipofosfatemia, que

de igual forma genera una resistencia a la insulina (Crossin et al., 2018; Cruz-Valdéz, 2011).

En 2015, Dick y colaboradores realizaron una investigación donde observaban cómo la inhalación de tolueno de forma crónica resultaba en una disfunción metabólica y daño en la homeostasis de la glucosa en ratas adolescentes. Los resultados de esta investigación fueron que la exposición a tolueno durante la adolescencia en ratas generaba efectos metabólicos a largo plazo, estos desórdenes metabólicos estaban relacionados con el balance energético y el control glicémico (Dick et al., 2015).

En otra investigación realizada por Won y colaboradores, en 2011, se analizaron los efectos a largo plazo de trabajadores expuestos a hidrocarburos monocíclicos aromáticos en la resistencia a la insulina. Encontraron que una citocina, siendo ésta el TNF- $\alpha$ , se veía aumentada en el grupo de individuos expuesto a hidrocarburos monocíclicos aromáticos, comparado con el grupo de individuos que no tenían contacto con los hidrocarburos (Won et al., 2011). Bien es sabido que el aumento de algunas citocinas, como lo es el TNF- $\alpha$ , es un factor para la inhibición del ISR-1 (sustrato de la insulina 1), favoreciendo la resistencia a la insulina (Carter-Kent et al., 2008). Karagözler también reportó que los disolventes aumentan el TNF- $\alpha$  y disminuyen la superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa, siendo factores para que se presente resistencia a la insulina (fig. 2 y 3) (Karagözler et al., 2002).

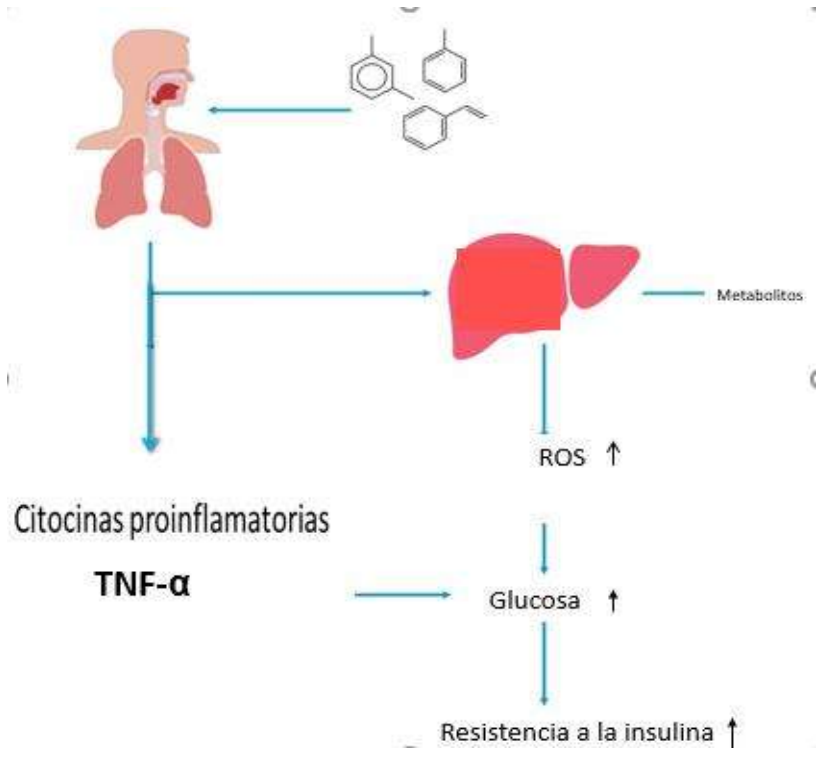


Figura 2. Posible mecanismo de resistencia a la insulina por hidrocarburos monocíclicos aromáticos; ROS (Especies Reactivas de Oxígeno), TNF- $\alpha$  (Factor de Necrosis Tumoral- $\alpha$ ). (Won et al., 2011)

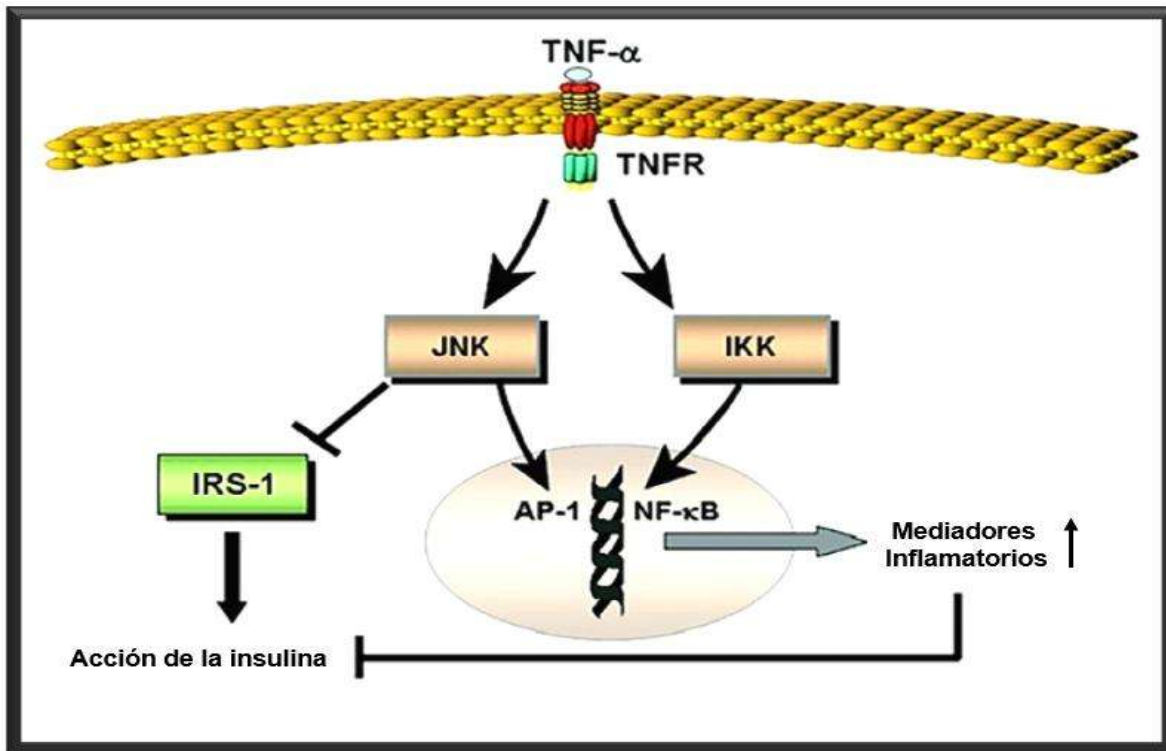


Figura 3. Representación del mecanismo por el cual el TNF- genera resistencia a la insulina; IRS-1 (sustrato del receptor de insulina 1), TNF- $\alpha$  (factor de necrosis tumoral alfa), NF- $\kappa$ B (factor nuclear kappa-B), JNK (quinasa c-Jun N-terminal), IKK (cinasa del inhibidor de NF- $\kappa$ B) (Carter-Kent et al., 2008).

### 7.10 Receptores adrenérgicos alfa 1

Los receptores adrenérgicos (RA) son un tipo de receptores acoplados a proteínas G (RAPG), cuya función es mediar los efectos de catecolaminas, como la adrenalina y la noradrenalina. Se han llegado a distinguir diversos tipos de receptores adrenérgicos, donde se consideran 9 integrantes de tres subfamilias: tres  $\alpha_1$  ( $\alpha_{1A}$ ,  $\alpha_{1B}$  y  $\alpha_{1D}$ ), tres  $\alpha_2$  ( $\alpha_{2A}$ ,  $\alpha_{2B}$  y  $\alpha_{2C}$ ) y tres  $\beta$  ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ ). Estos receptores adrenérgicos están presentes en diversas cantidades en los tejidos, incluyendo el cerebro, el corazón, los vasos sanguíneos, el hígado, los riñones, el bazo y la próstata, por mencionar algunos. Las funciones de los receptores adrenérgicos van desde la modulación de la neurotransmisión, regulación del metabolismo, inotropía cardíaca, cronotropía y vasoconstricción (Graham et al., 1996; Strosberg, 1993).

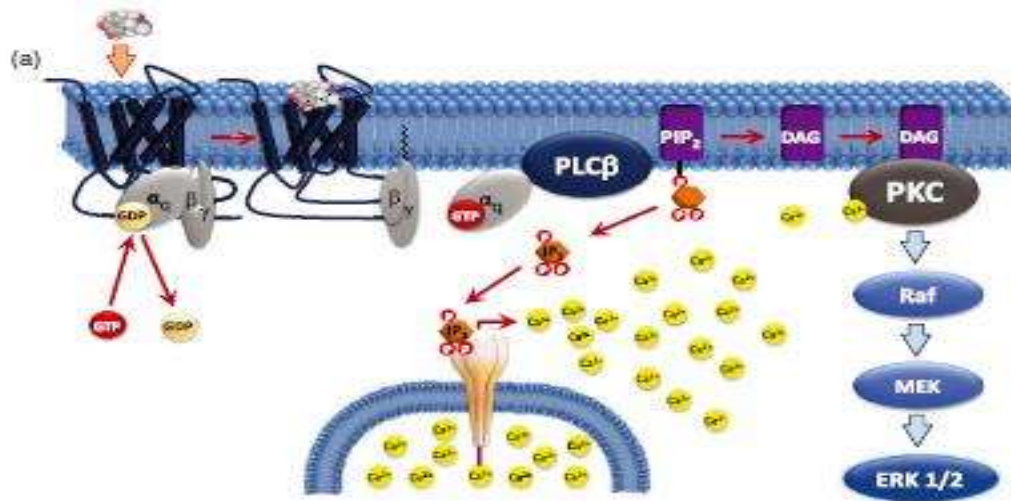


Figura 4. Representación clásica de la señalización de receptores acoplados a proteínas Gq (Akinaga et al., 2019).

La subfamilia de receptores alfa 1 adrenérgicos pertenecen a los  $RAPG_q$ , los cuales tienen cadenas polipeptídicas únicas que varían de 429 a 561 aminoácidos de longitud, son activados por catecolaminas, generando la activación de la fosfolipasa C  $\beta$ , hidrolizando el fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato a diacilglicerol (DAG) e inositol trifosfato (IP3), llevando a cabo una movilización intracelular de calcio y activando a la proteína cinasa C (PKC), como se ve representado en la figura 4. Los tres subtipos principales de receptores alfa 1 adrenérgicos: alfa1A, alfa1B y alfa1D, son expresados en cantidades diferentes en los tejidos, donde el corazón contiene los tres subtipos (Yono et al., 2004). Los receptores  $\alpha_{1A}$  y  $\alpha_{1B}$  son expresados en el miocardio, tanto de ratones como de humanos, mientras que los receptores  $\alpha_{1D}$  se encuentran en las arterias coronarias y aorta (Graham et al., 1996; Jensen et al., 2014).

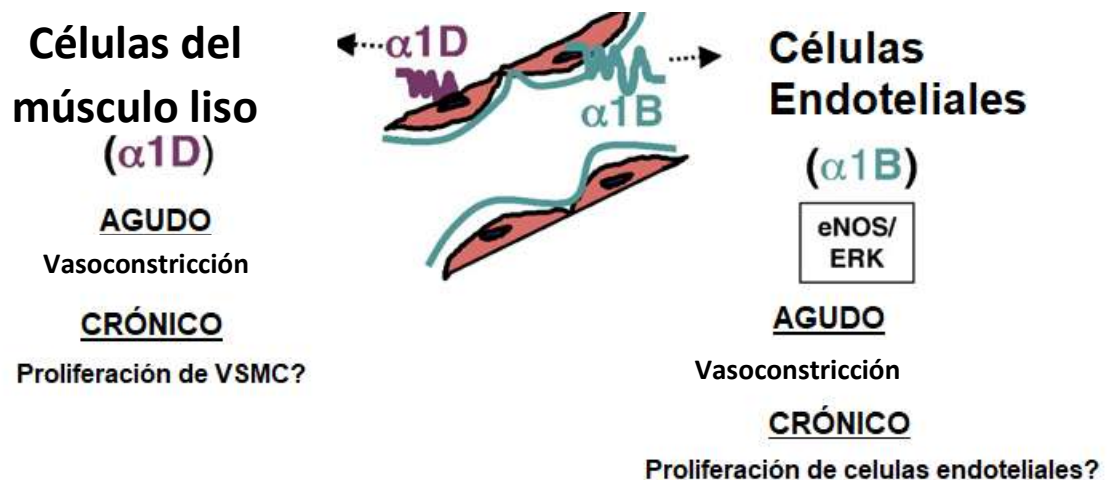


Figura 5. Diferentes receptores adrenérgicos en células y sus funciones; eNOS (Óxido Nítrico Sintasa endotelial), ERK (quinasa regulada por señal extracelular), VSMC (células musculares lisas vasculares) (Jensen et al., 2011).

Existe una menor cantidad de receptores adrenérgicos alfa que de receptores adrenérgicos beta en un corazón saludable. La cantidad de receptores adrenérgicos puede ser mantenida o puede estar modificada en caso de que exista una falla cardíaca. La falla cardíaca tiene como característica un aumento crónico de catecolaminas y un mal funcionamiento de los receptores beta adrenérgicos, aumentando la inotropía (Jensen et al., 2011; 2014).

### 7.11 Modulación de los receptores adrenérgicos

El receptor adrenergico  $\alpha_{1D}$  es el receptor menos estudiado de los receptores adrenérgicos  $\alpha_1$ . Lo que se conoce en cuanto a la expresión del receptor  $\alpha_{1D}$  es que éste se ve aumentado cuando su N-terminal se ve truncada o sustituida por la N-terminal  $\alpha_{1B}$  (Hague et al., 2004); también se sabe que presenta una actividad constitutiva que predispone a los receptores  $\alpha_{1D}$  a una fosforilación e internalización de estos; los receptores adrenérgicos  $\alpha_{1D}$  también son expresados en la membrana a través de otros receptores adrenérgicos, como el receptor adrenérgico  $\alpha_{1B}$  y el  $\beta_2$ , que son usados como chaperonas para el tránsito hacia la membrana celular (Fig. 6) (Finch & Graham, 2006). La N-glicosilación es otro factor que es requerido

para la correcto trafico y biogénesis de los receptores adrenérgicos  $\alpha_{1D}$ , el N-gilcano se une al polipéptido en la membrana celular del retículo endoplásmico (RE) para que éste pueda ser traducido, en caso de no unirse este polipeptido se ve truncado y se degrada (Janezic, 2020).

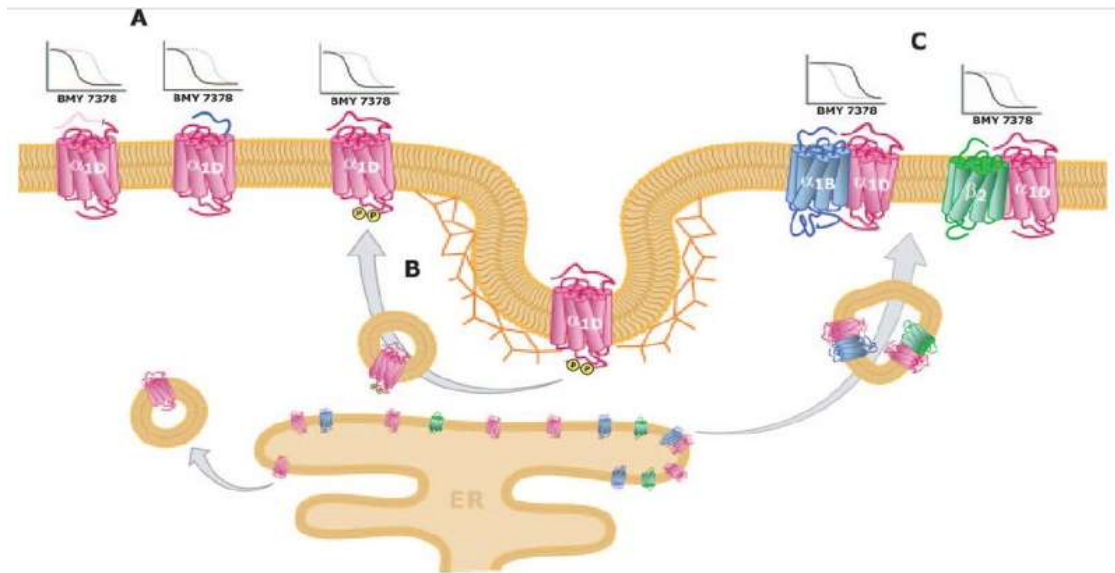


Figura 6. Expresión de receptores adrenérgicos  $\alpha_{1D}$  en la membrana celular (Finch & Graham, 2006).

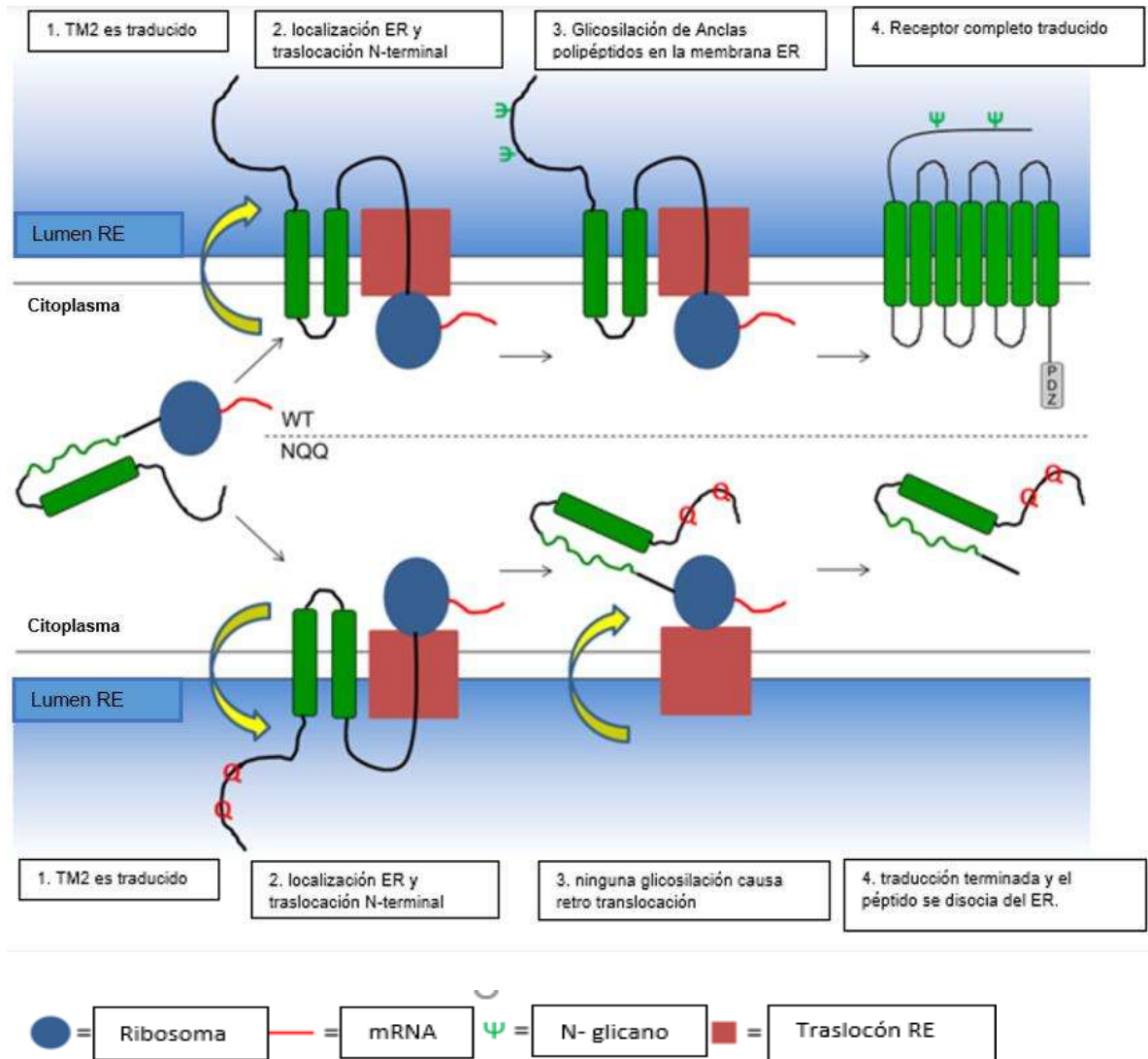


Figura 7. Modelo de función propuesta para la glicosilación N-terminal en la biosíntesis de los receptores adrenérgicos  $\alpha_{1D}$  (Janezic, 2020).

### 7.12 Diabetes, tolueno y receptores adrenérgicos

El tolueno es una de las sustancias inhalables más comunes en el mercado, lo que convierte a ésta en una sustancia de interés para los investigadores, ya que llega a afectar diversos tejidos a través de los mecanismos antes mencionados. Aunque se desconoce cómo actúa el tolueno sobre los receptores adrenérgicos presentes en las arterias, como lo es la aorta, en 2018 Carreón-Garcidueñas y colaboradores encontraron que, en

experimentos realizados en ratas, la inhalación de tolueno produce un aumento en la expresión de los receptores adrenérgicos  $\beta_1$  y una disminución de la expresión de canales de  $\text{Na}^+$  y de  $\text{Ca}^{+2}$  dependientes de voltaje, lo cual permite sugerir que las arritmias cardiacas que se producen en las personas que inhalan disolventes y que llevan a la presentación de muerte súbita por inhalación podrían deberse, al menos en parte, a alguno de los mecanismos antes mencionados (Carreón-Garcidueñas et al., 2018).

De acuerdo con artículos publicados en 2013 y en 2020 por Rodríguez y colaboradores, se identificó que no existe un aumento en la expresión de receptores adrenérgicos  $\alpha_{1D}$  en la aorta de ratas diabéticas de manera aguda, mientras que cuando las ratas son inducidas a una diabetes crónica sí existe un aumento, tanto en los receptores adrenérgicos  $\alpha_{1A}$  como  $\alpha_{1D}$  en la aorta (Rodríguez et al., 2013; Rodríguez et al., 2020).

## 8 Justificación

La diabetes es una de las enfermedades más comunes a nivel mundial y México se encuentra en uno de los primeros lugares en cuanto a países con prevalencia de esta enfermedad, siendo un problema importante de salud pública. De acuerdo con la ENSA (Encuesta Nacional de Salud) del 2000 y la ENSANUT (Encuesta Nacional de Salud y Nutrición) del 2006, 2012 y 2018, existe una tendencia creciente en cuanto a la prevalencia de esta enfermedad. Esta tendencia va aumentando cada vez más y se debe a diversos factores, lo cual se puede apreciar en todos los estados del país, incluyendo Michoacán, donde se observa un aumento en las últimas dos encuestas, ya que en 2012 hubo un 7.7% de prevalencia y en 2018 aumentó a un 9.9% (Rojas-Martínez et al., 2018).

Una consecuencia generada por la diabetes mellitus es el daño cardiovascular, que se ve reflejado por la enfermedad coronaria, falla del corazón y daño endotelial (Hoffman, 2014; Vasiliadis et al., 2014); además, la diabetes aumenta 2.3 veces la probabilidad de sufrir de enfermedades cardiovasculares, comparada a personas sin diabetes mellitus (Benjamin et al., 2019; Chan et al., 2020).

Otro problema importante de salud pública en México es el consumo de drogas de abuso, donde se tienen registros del abuso de inhalables desde 1960. Los inhalables son uno de los grupos de drogas más consumidos por los jóvenes en México. La prevalencia del consumo de inhalables en los jóvenes es alta, debido a que son drogas de abuso cuya venta es legal y son de fácil acceso (Villatoro et al., 2011).

El tolueno es el disolvente inhalable más consumido, llegando a generar diversos efectos, dependiendo de la dosis que se consuma. El mayor riesgo asociado al consumo de inhalables, como el tolueno, es la presentación de muerte súbita por inhalación (Carreón-Garcidueñas et al., 2018).

Con base en los datos anteriores, se propone el presente trabajo de investigación, donde se pretende analizar la respuesta vascular adrenérgica en ratas con diabetes y expuestas a tolueno, ya que se desconocen los efectos que se pueden producir sobre la función adrenérgica en la aorta de ratas diabéticas expuestas al disolvente de abuso.

## 9 Hipótesis

La exposición subaguda y crónica a tolueno produce un aumento significativo en la respuesta vascular adrenérgica en la aorta de ratas con diabetes mellitus.

## 10 Objetivos

### 10.1 Objetivo general

- Determinar el efecto de la exposición subaguda y crónica a tolueno sobre la respuesta vascular adrenérgica en ratas con diabetes mellitus.

### 10.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la exposición subaguda a tolueno sobre la respuesta vascular adrenérgica en la aorta de ratas con diabetes mellitus.
- Evaluar el efecto de la exposición crónica a tolueno sobre la respuesta vascular adrenérgica en la aorta de ratas con diabetes mellitus.
- Comparar los efectos de la exposición subaguda y crónica a tolueno sobre la respuesta vascular adrenérgica en ratas con diabetes mellitus.

## 11 Materiales y métodos

### 11.1 Animales

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar entre 8-9 semanas de edad de 250-300 g de peso, reproducidas en el IIQB de la UMSNH. Los animales tuvieron periodos de 12 h de luz y 12 h de oscuridad con acceso libre a su respectivo alimento y agua.

### 11.2 Sustancias utilizadas

Se utilizó el tolueno de la marca Meyer y Los reactivos adquiridos en Sigma-Aldrich: Estreptozotocina, Fenilefrina y el agonista BMY 7378. La Fenilefrina y el BMY 7378 se disolvieron en agua destilada. La estreptozotocina, esta se diluyó en una solución de citrato (50mM, pH 4.5).

### 11.3 Aspectos éticos

Todos los procedimientos experimentales se sometieron a aprobación por el Comité de Ética Institucional, y se realizaron de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

### 11.4 Grupos experimentales

Se utilizaron 2 grupos control de ratas Wistar: el primer grupo fue un control subagudo sin diabetes y sin tolueno (sólo expuesto a aire 30 min x 1 semana, dos veces al día); el segundo grupo fue un control crónico sin diabetes no expuesto a tolueno (sólo expuesto a aire 30 min x 4 semanas, dos veces al día). Se utilizaron 6 grupos experimentales: el primer grupo experimental fue un grupo subagudo diabético sin tolueno (sólo expuesto a aire 30 min x 1 semana, dos veces al día); el segundo grupo experimental fue un grupo subagudo sin diabetes expuesto a tolueno (6000 ppm, 30 min x 1 semana dos veces al día); el tercer grupo experimental fue un grupo subagudo diabético expuesto a tolueno (6000 ppm, 30 min x 1 semana); el cuarto grupo experimental fue un grupo crónico diabético sin tolueno (sólo

expuesto a aire 30 min x 4 semanas, dos veces al día), el quinto grupo experimental fue un grupo crónico sin diabetes expuesto a tolueno (6000 ppm, 30 min x 4 semanas dos veces al día), el sexto grupo experimental fue un grupo crónico diabético expuesto a tolueno (6000 ppm, 30 min x 4 semanas).

### 11.5 Inducción de diabetes

La inducción de diabetes mellitus de tipo 1 se hizo a través del fármaco estreptozotocina, que es un fármaco citotóxico para las células beta en los islotes de Langerhans del páncreas (Deeds et al., 2011). La dosis fue de 50 mg/kg disuelto en buffer de citrato, administrada vía i.p; se medirán las concentraciones de glucosa 7 días después de la administración a través de un kit; en caso de no presentar hiperglicemia en este lapso se aplicó una segunda dosis de estreptozotocina. A las ratas control sólo se les administró buffer de citrato por vía i.p.

### 11.6 Exposición a tolueno

La exposición a los inhalables, en este caso tolueno, se realizó colocando a una rata en una cámara de exposición estática de 29 L. La cámara consta de un frasco cilíndrico cromatográfico cubierto con una tapa de acrílico, posee un puerto de inyección y un ventilador que se proyecta hacia dentro de la cámara sobre una plataforma de malla de acero inoxidable.

Se colocó un trozo de papel filtro en la malla para posteriormente colocar una rata de forma individual en la cámara. Se colocó la tapa y se inyectó una cantidad determinada de disolvente (calculada por la ecuación de Nelson, para obtener una concentración de 6000 ppm) sobre el papel filtro a través de un puerto de inyección. Se volatilizó el disolvente por medio de un ventilador, el cual va a ayudar a distribuir el disolvente de manera homogénea por toda la cámara.

Sólo se colocó una rata por cámara, por no más de 30 min, para evitar la acumulación de CO<sub>2</sub>. Se utilizó la concentración de 6000 ppm de tolueno en los diferentes grupos experimentales.

$$V = \frac{PM \cdot C_{ppm} \cdot V_s \cdot P}{d \cdot RT} \cdot 10^{-6}$$

$d$                        $RT$

***V= volumen de disolvente que se necesita inyectar para obtener la concentración deseada (mL)***

***PM= peso molecular del disolvente (g/mol) = 92.13 g/mol***

***C<sub>ppm</sub>= concentración deseada (ppm) = 6000 ppm***

***V<sub>s</sub>= volumen de la cámara de exposición (L) = 29 L***

***d = densidad del disolvente = 0.866 g/mL***

***P = presión atmosférica = 1 atm***

***R = constante general de los gases (L atm mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>) = 0.082 L atm/K mol***

*Ecuación de Nelson*

### 11.7 Contracción de aorta aislada

Las ratas fueron anestesiadas con una dosis de pentobarbital sódico de 50 mg/kg (Carreón-Garcidueñas et al., 2018), se les aisló la aorta, se realizó la remoción de grasa y la aorta fue cortada en anillos de 5 mm de longitud. Se removió el endotelio en la parte media de los anillos. Los anillos fueron sumergidos en solución de Krebs-Henseleit (mM): NaCl, 118; KCl, 4.7; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.2; MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 1.2; CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O, 2.55; NaHCO<sub>3</sub>, 25; dextrosa, 11.7 y EDTA, 0.026. Los anillos arteriales fueron colocados en cámaras para tejido aislado, se fijaron al fondo de la cámara y a un traductor de tensión isométrica Grass FT03 (Astro-Med, Inc. West Warwick, RI, EUA), la

temperatura se mantuvo a 37 grados centígrados, pH de 7.4 y burbujeo constante de 95% O<sub>2</sub> y 5% CO<sub>2</sub>.

Un sistema de adquisición de datos (Biopac System Inc. Santa Barbara, CA, EUA) se encargó del registro de los cambios en la tensión. Los anillos arteriales se someterán a una tensión inicial óptima de 3 g y se pre-estimularon en 3 ocasiones con una concentración submáxima de fenilefrina (1x10<sup>-7.5</sup> M) siendo este un agonista selectivo para los receptores adrenérgicos α<sub>1</sub>, después de dejar el tejido en recuperación, se realizaron análisis de las respuestas a fenilefrina a través de curvas de concentración-respuesta en presencia de BMY 7378 (1x10<sup>-7.5</sup> M, 1x10<sup>-8</sup> M, 1x10<sup>-8.5</sup> M) siendo este un antagonista selectivo α<sub>1D</sub>. Los valores de pA<sub>2</sub> (afinidad del receptor por el antagonista) se obtendrían por análisis de Schild en donde los valores de la pendiente fueron diferentes a 1. Cuando los valores de la pendiente fueron diferentes de uno se calculó el valor de pK<sub>B</sub> de acuerdo con la siguiente ecuación (Furchgott, 1972).

$$pK_B = \frac{\sum_{i=1}^n \log (DR_i - 1)}{n} - \frac{\sum_{i=1}^n \log [B_i]}{n}$$

Donde:

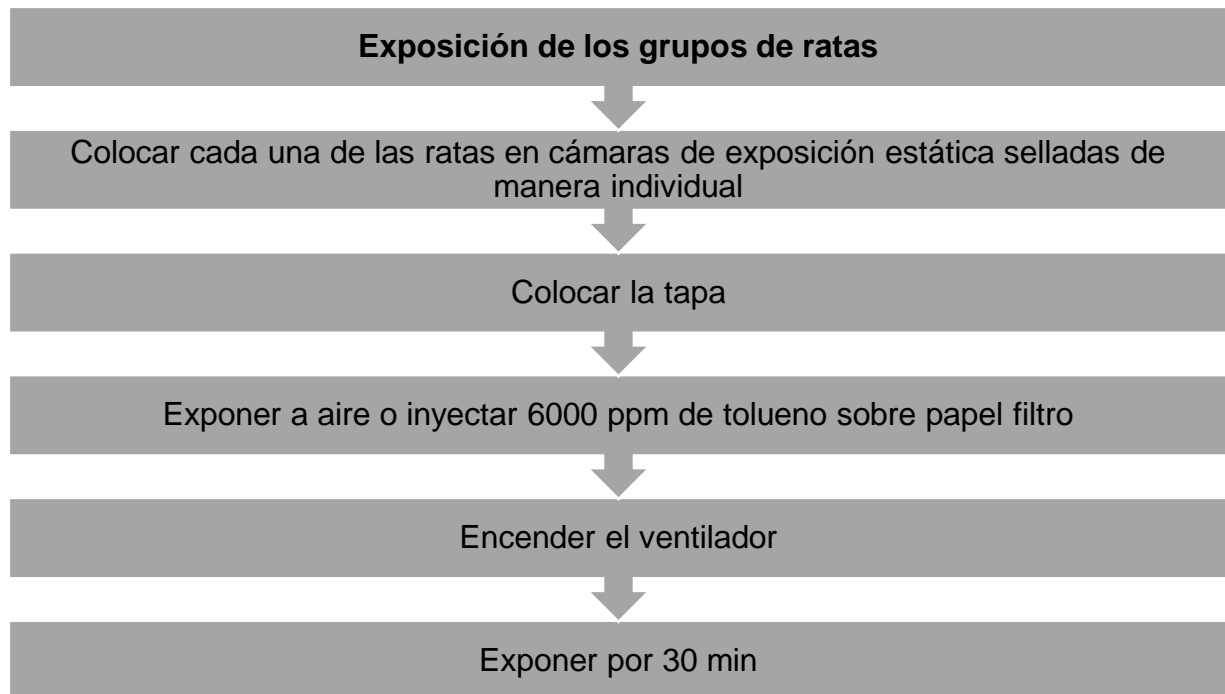
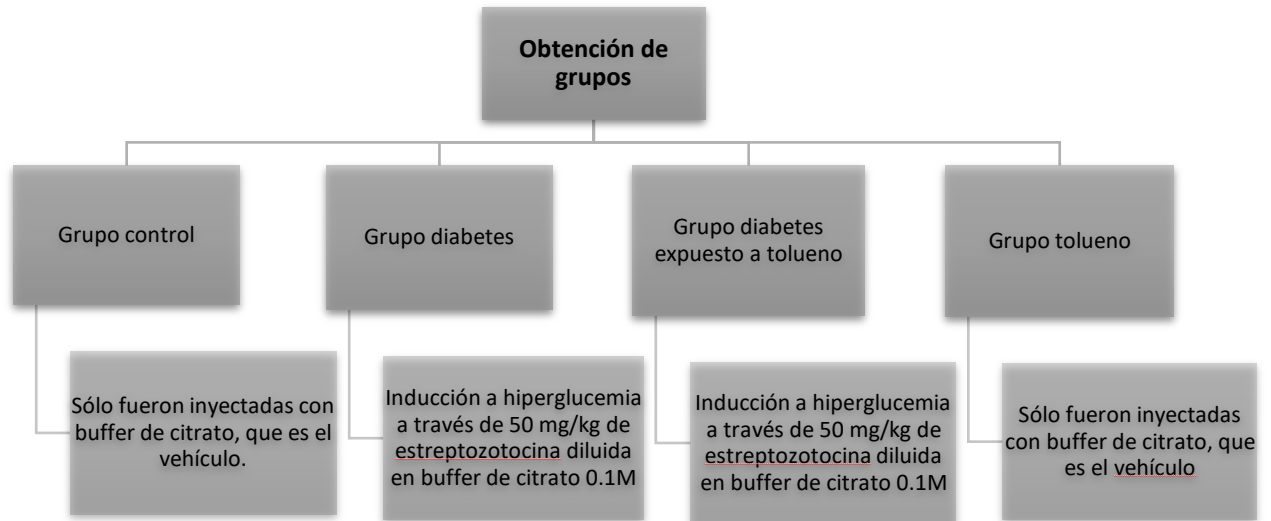
DR<sub>i</sub>= Relación de dosis (CE<sub>50</sub> en presencia de antagonista/ CE<sub>50</sub> en ausencia del antagonista)

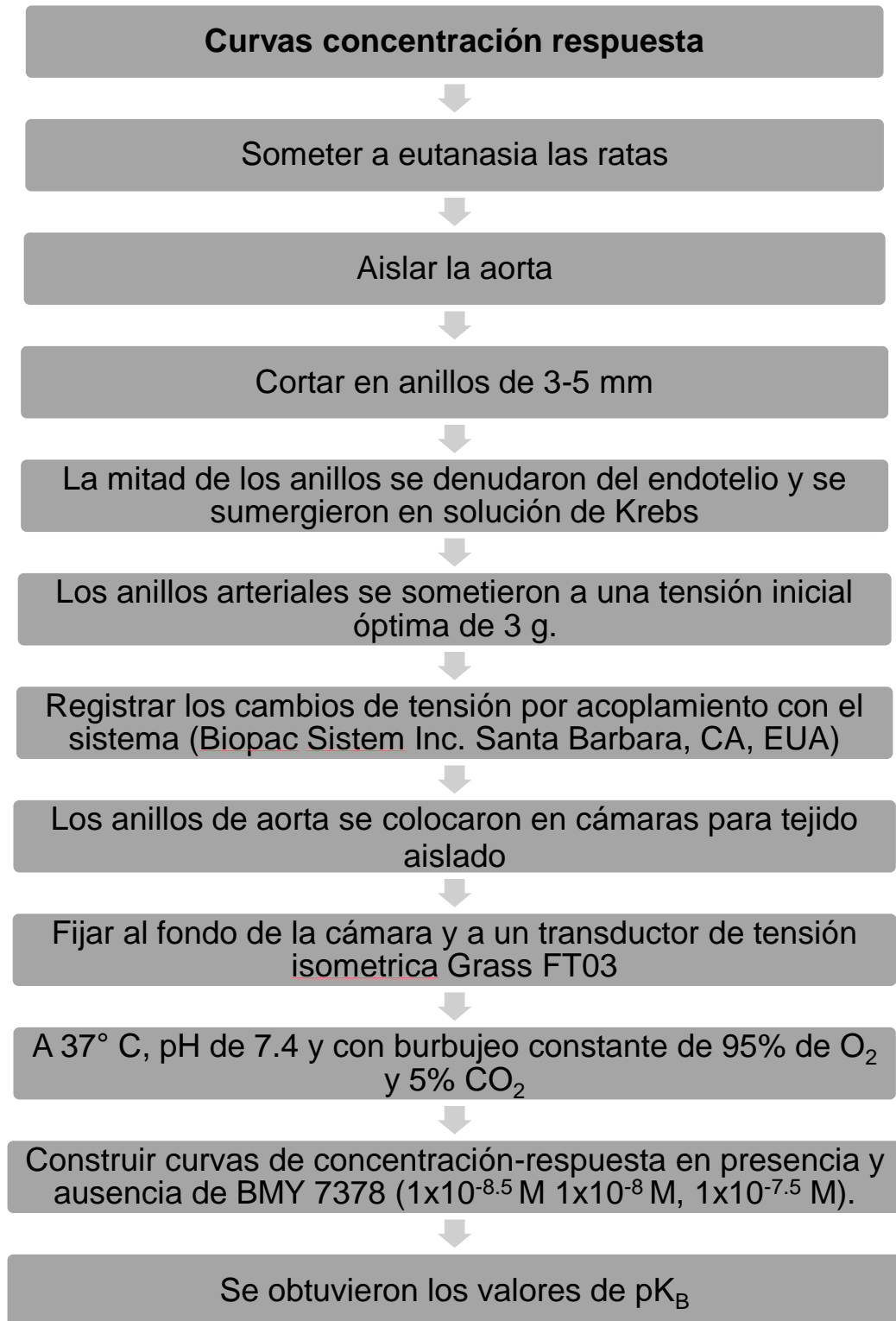
1= Constante

[B<sub>i</sub>]= Concentración del antagonista

n= Numero de ensayos

## 11.8 Estrategia experimental





## 12 Resultados

### 12.1 Exposición subaguda a tolueno

*Tabla 1. Peso (g) y glucosa (mg/dl) de las ratas no diabéticas al administrar buffer de citrato y una semana después de la administración. Los datos se expresan como el promedio  $\pm$  e.e. de  $n=6$ .*

Comparación de los pesos y concentraciones de glucosa en los grupos de ratas				
Ratas no diabéticas	Peso inicial (g)	Glucosa inicial (mg/dl)	Peso final (g)	Glucosa final (mg/dl)
Promedio	306.80 $\pm$ 32.01	72.00 $\pm$ 8.9	331.45 $\pm$ 27	112.60 $\pm$ 8.9

Se realizó una comparación de los pesos (g) y de la concentración de glucosa (mg/dl) en los grupos de ratas no diabéticas como se muestra en la **Tabla 1**, donde no existió diferencia significativa cuando se compararon los valores al inicio y al final del experimento. A los grupos no diabéticos sólo se les administró buffer de citrato, el cual no generó ningún efecto sobre el peso ni sobre la concentración de glucosa.

*Tabla 2. Peso (g) y glucosa (mg/dl) de las ratas diabéticas al administrar estreptozotocina y una semana después de la administración. Los datos se expresan como el promedio  $\pm$  e.e. de  $n=6$ .*

Comparación de los pesos y concentraciones de glucosa en los grupos de ratas				
Ratas diabéticas	Peso inicial (g)	Glucosa inicial (mg/dl)	Peso final (g)	Glucosa final (mg/dl)
Promedio	301.61 $\pm$ 22.3	76.78 $\pm$ 14.7	294.00 $\pm$ 35.4	428.78 $\pm$ 69.3*

(\*)  $p < 0.05$  vs. Glucosa inicial.

Se realizó una comparación de los pesos (g) y de la concentración de glucosa (mg/dl) entre los grupos de ratas diabéticas (**Tabla 2**), donde no existió diferencia significativa cuando se compararon los pesos (g) al inicio y al final del experimento, mientras que sí existieron diferencias significativas

( $p < 0.05$ ) cuando se compararon los valores de glucosa. El aumento de la concentración de glucosa se debe a la estreptozotocina, que es un fármaco citotóxico para las células beta presentes en los islotes de Langerhans en el páncreas.

### A Grupos de ratas + endotelio

### B Grupos de ratas - endotelio

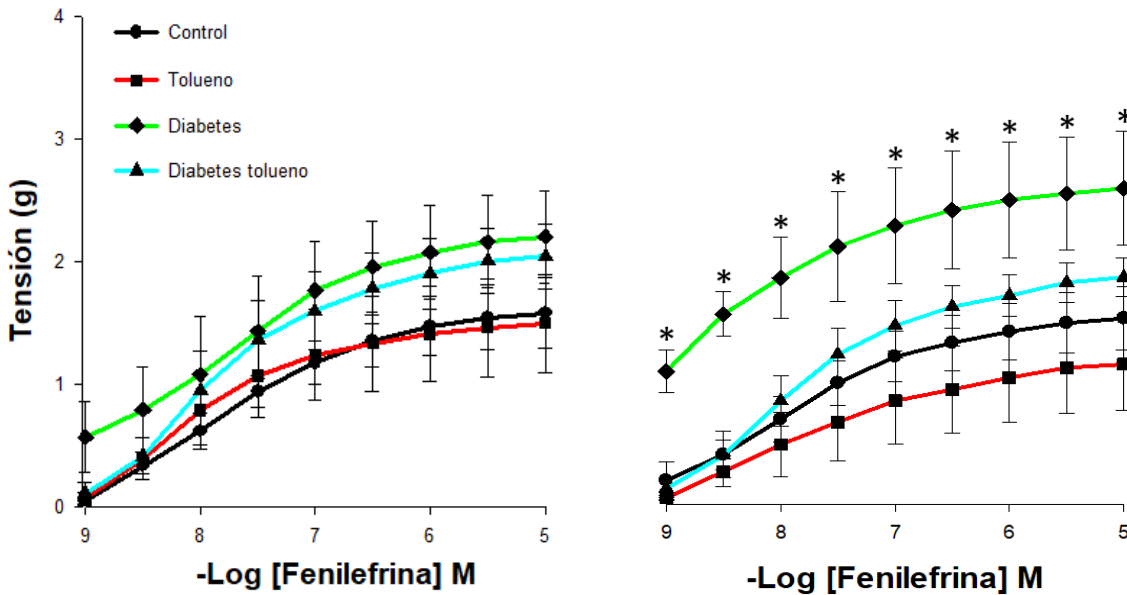


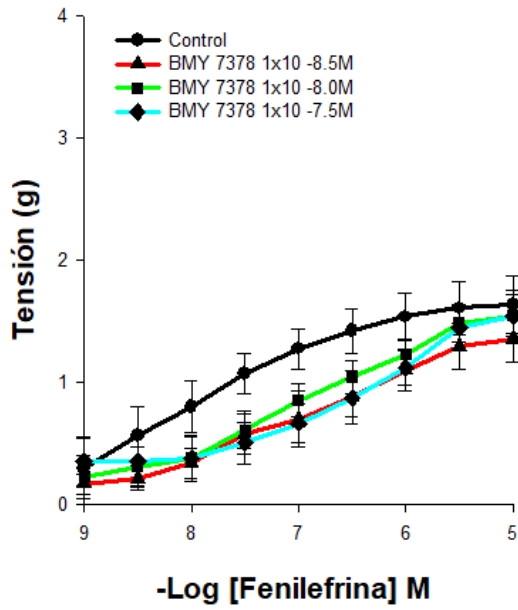
Figura 8. Curvas concentración-respuesta a fenilefrina en la exposición subaguda, donde se muestra la contracción de la aorta (con y sin endotelio) en ratas control (Control), ratas expuestas a tolueno (Tolueno), ratas inducidas a diabetes (Diabetes) y ratas diabéticas expuestas a tolueno (Diabetes tolueno). Los datos se analizaron por medio de un análisis de varianza de dos vías (ANOVA), seguido de una prueba post hoc (Tukey) y se expresan como los promedios  $\pm$  e.e. de  $n=6$ , B)  $*$  =  $p < 0.05$  vs control, tolueno, diabetes tolueno.

En la **Figura 8A** (exposición subaguda a tolueno, aortas con endotelio) se observó que la fenilefrina ejerce un aumento en la respuesta contráctil de la aorta de manera dependiente de la concentración creciente de fenilefrina en los diferentes grupos experimentales, hasta llegar a un efecto máximo. Al realizar el análisis estadístico de los datos por medio de un análisis de varianza de dos vías (ANOVA) seguido de una prueba post hoc (Tukey) en donde no se obtuvieron diferencias significativas, lo que nos estaría indicando que al estar presente el endotelio y éste ejercer su función de

manera correcta como vaso modulador manteniendo la tensión de los diferentes grupos.

*En la **Figura 8B*** (exposición subaguda a tolueno, aortas sin endotelio) se observó que la fenilefrina ejerce un aumento en la respuesta contráctil de la aorta de manera dependiente de la concentración creciente de fenilefrina en los diferentes grupos experimentales, hasta llegar a un efecto máximo. Al realizar el análisis estadístico de los datos por medio de un análisis de varianza de dos vías (ANOVA) seguido de una prueba post hoc (Tukey) se obtuvieron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), al comparar los diferentes grupos, las diferentes concentraciones crecientes de fenilefrina (M) y la tensión (g); donde se logra apreciar que existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) cuando se comparan los diferentes grupos a diferentes concentraciones, como es el caso del grupo de ratas diabéticas vs los demás grupos, ya que en el grupo de ratas diabéticas desde la primera concentración de fenilefrina se logra observar un aumento de la tensión, traduciéndose en una hiperreactividad en este grupo hacia la fenilefrina, comparado con los demás. Otra diferencia que cabe resaltar es la disminución significativa ( $p < 0.05$ ) de la tensión del grupo diabetes-tolueno cuando es comparado con el grupo diabetes, lo cual se podría interpretar como que al estar presente la diabetes de manera subaguda ésta genere un incremento funcional en los receptores adrenérgicos  $\alpha_1$ , mientras que en las ratas que han sido inducidas a diabetes y expuestas a tolueno éste último genere una disminución de los receptores adrenérgicos  $\alpha_1$  funcionales, provocando una disminución en la respuesta hacia la fenilefrina.

### Ratas control + endotelio



### Ratas control - endotelio

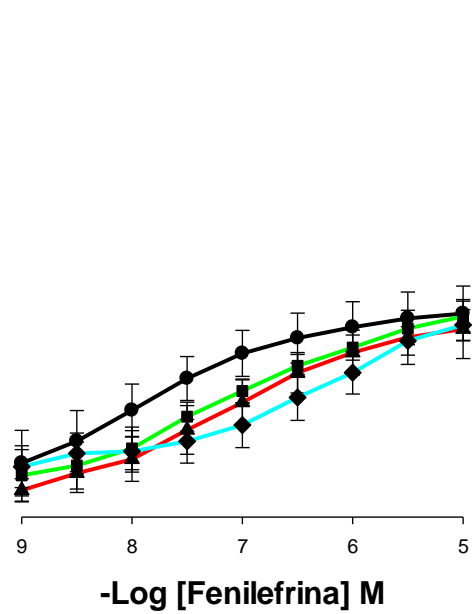
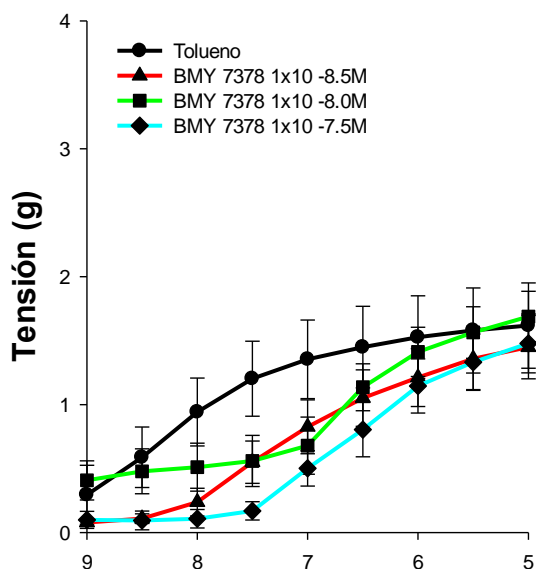


Figura 9. Curvas concentración-respuesta para el efecto del BMY 7378 sobre la contracción de la aorta (con y sin endotelio) inducida por concentraciones crecientes de fenilefrina en ratas control (Control, expuestas a aire de manera subaguda). Los datos se expresan como el promedio  $\pm$  e.e. de  $n=6$ .

### Ratas tolueno + endotelio



### Ratas tolueno - endotelio

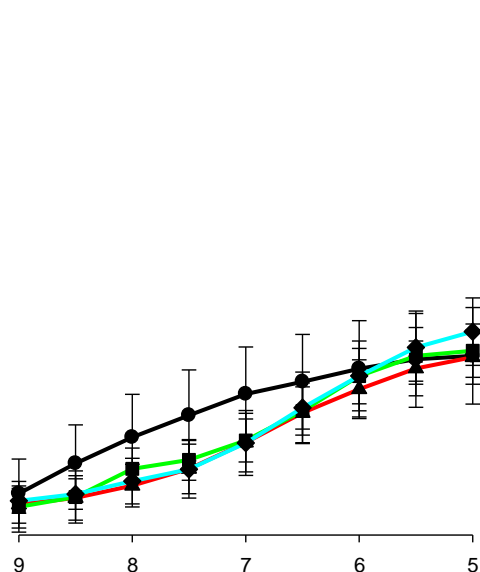
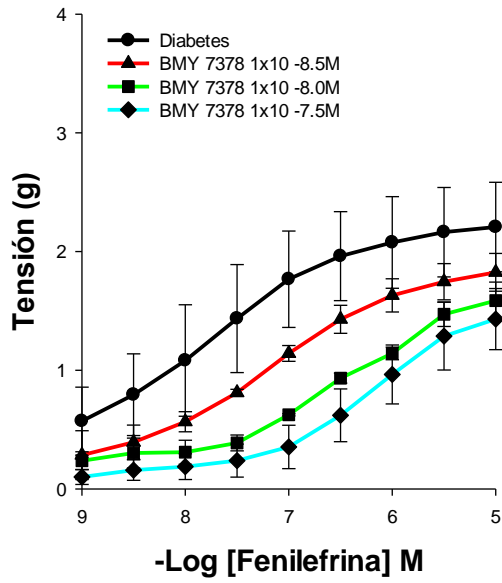


Figura 10. Curvas concentración-respuesta para el efecto del BMY 7378 sobre la contracción de la aorta con endotelio y sin endotelio inducida por concentraciones crecientes de fenilefrina en ratas expuestas a tolueno (Tolueno, expuestas a 6000 ppm de manera subaguda). Los datos se expresan como el promedio  $\pm$  e.e. de  $n=6$ .

### Ratas diabetes + endotelio



### Ratas diabetes - endotelio

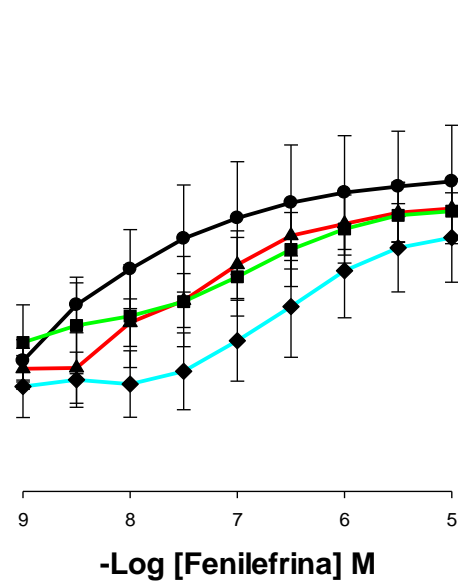


Figura 11. Curvas concentración-respuesta para el efecto del BMY 7378 sobre la contracción de la aorta (con y sin endotelio) inducida por concentraciones crecientes de fenilefrina en ratas inducidas a diabetes (Diabetes, expuestas a aire de manera subaguda). Los datos se expresan como el promedio  $\pm$  e.e. de  $n=6$ .

## Ratas diabetes tolueno + endotelio

## Ratas diabetes tolueno - endotelio

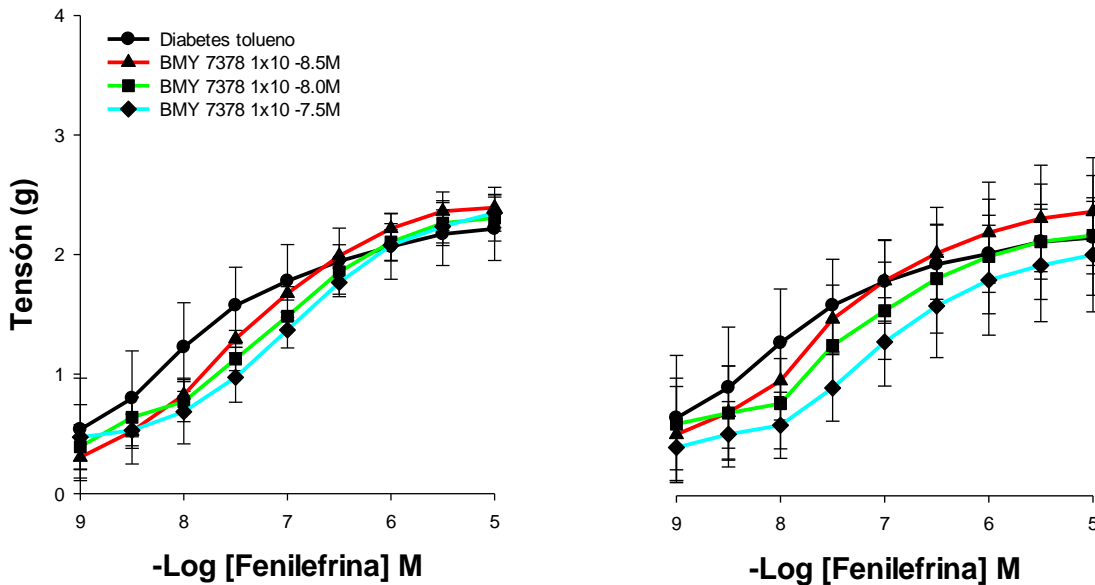


Figura 12. Curvas concentración-respuesta para el efecto del BMY 7378 sobre la contracción de la aorta (con y sin endotelio) inducida por concentraciones crecientes de fenilefrina en ratas diabéticas expuestas a 6000 ppm de tolueno de manera subaguda (Diabetes tolueno). Los datos se expresan como el promedio  $\pm$  e.e. de  $n=6$ .

En las **Figuras 9, 10, 11 y 12** se muestran las curvas concentración-respuesta a fenilefrina (agonista selectivo  $\alpha_1$ ) en la aorta con y sin presencia del endotelio de las ratas expuestas 1 semana solamente a aire (grupo control) (fig. 9), ratas expuestas a 6000 ppm de tolueno por 1 semana (grupo tolueno) (fig. 10), ratas diabéticas expuestas solamente a aire por 1 semana (grupo diabetes) (fig. 11) y las ratas diabéticas que fueron expuestas a 6000 ppm de tolueno por 1 semana (grupo diabetes tolueno) (fig. 12) en presencia de concentraciones crecientes de BMY 7378 (antagonista adrenérgico selectivo  $\alpha_{1D}$ ). Se logró observar que la fenilefrina generó una contracción dependiente de la concentración administrada y que dicha contracción se vio afectada con cada una de las concentraciones de BMY 7378, a través de un desplazamiento de las curvas hacia la derecha, lo cual nos estaría indicando que se trata de un antagonismo competitivo, ya que se ocupan concentraciones más altas de fenilefrina

para que genere contracción. Aunque se logra observar un desplazamiento hacia la derecha al momento de realizar la comparación de los valores de afinidad de los diferentes grupos no se logra observar diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre estos valores. Lo cual nos indica que existe la participación de los receptores adrenérgicos  $\alpha_{1D}$  pero no un aumento de estos entre los diferentes grupos.

## 10.2 Exposición crónica a tolueno

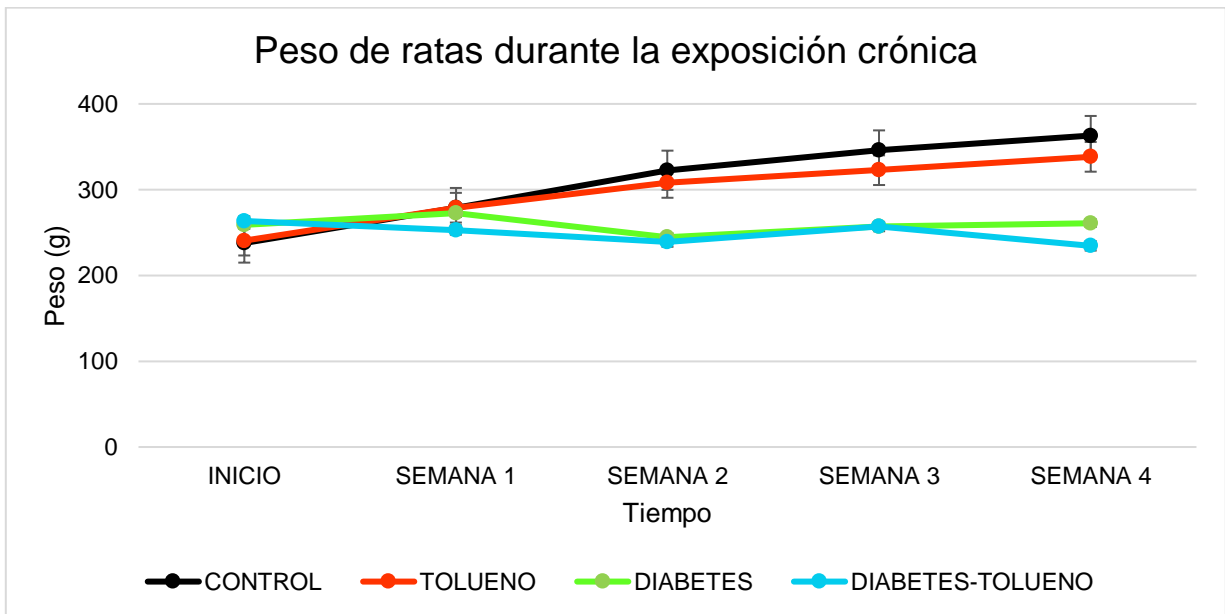


Figura 13. Pesos de los animales (g) al inicio de cada semana durante la exposición crónica en ratas control (Control), ratas expuestas a tolueno (Tolueno), ratas inducidas a diabetes (Diabetes) y ratas diabéticas expuestas a tolueno (Diabetes tolueno). Los datos se expresan como el promedio  $\pm$  e.e. de  $n=6$ .

En la **Figura 13** se realizó una comparación de los pesos de los animales de los diferentes grupos experimentales durante la exposición crónica, donde se logra observar que no existe diferencia significativa al inicio y en la primera semana de exposición, mientras que a partir de la segunda semana de exposición se observa una disminución estadísticamente

significativa ( $p < 0.05$ ) de los pesos de los animales diabéticos, comparados con los pesos de los grupos que no fueron inducidos a diabetes.

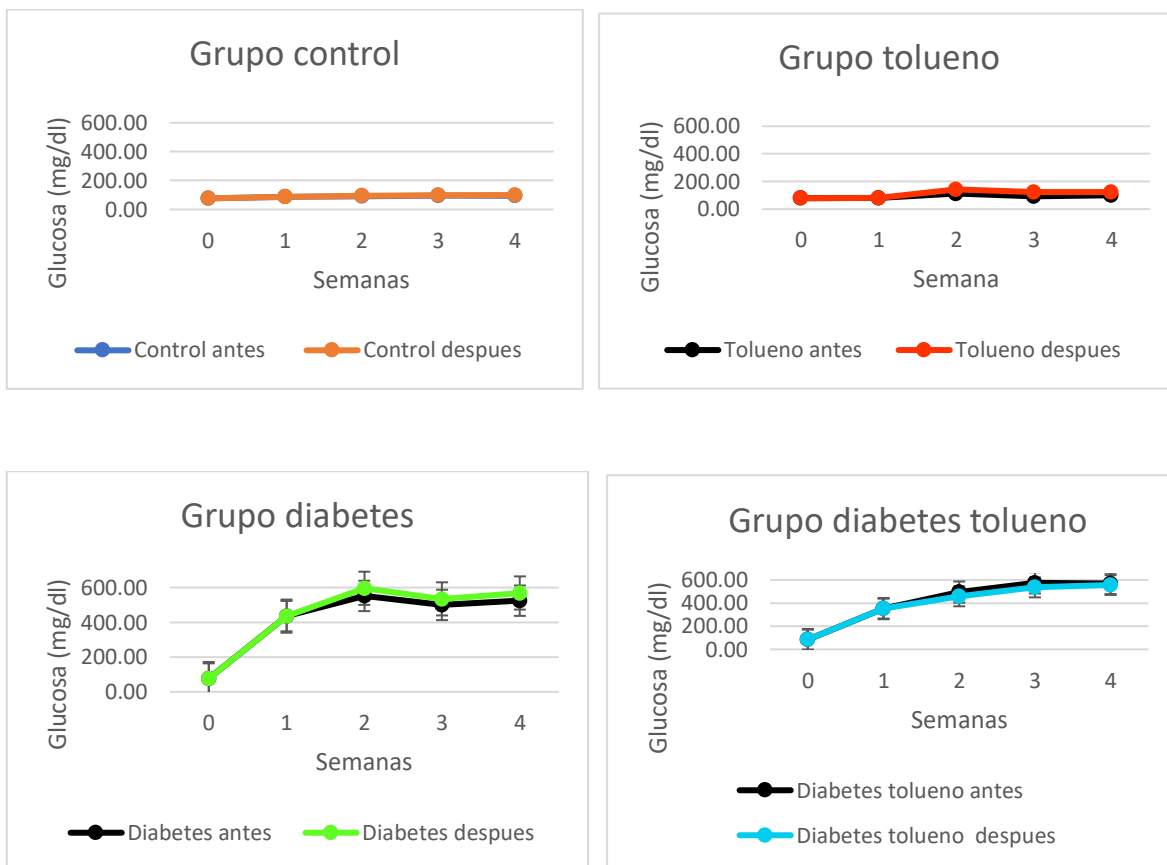


Figura 14. Curvas de concentraciones de glucosa (mg/dl) al inicio de cada semana antes y después de ingresar a las cámaras exposición estática durante la exposición crónica en ratas control (Control), ratas expuestas a tolueno (Tolueno), ratas diabéticas (Diabetes) y ratas diabéticas expuestas a tolueno (Diabetes tolueno). Los datos se expresan como el promedio  $\pm$  e.e. de  $n=6$ .

En la **Figura 14** se midió la concentración de glucosa (mg/dl) cada semana para los diferentes grupos experimentales antes de ingresar a la cámara de exposición estática y después de haber concluido con la exposición en dicha cámara ya que existen reportes indicando un aumento en la concentración de glucosa al inhalar disolventes. Se logra observar un aumento en las concentraciones de glucosa a partir de la segunda semana en los grupos de ratas que fueron inducidos a diabetes, aunque no se

presentó una diferencia estadísticamente significativa antes y después de ingresar a la cámara de exposición estática.

**A Grupo de ratas + endotelio**

**B Grupo de ratas - endotelio**

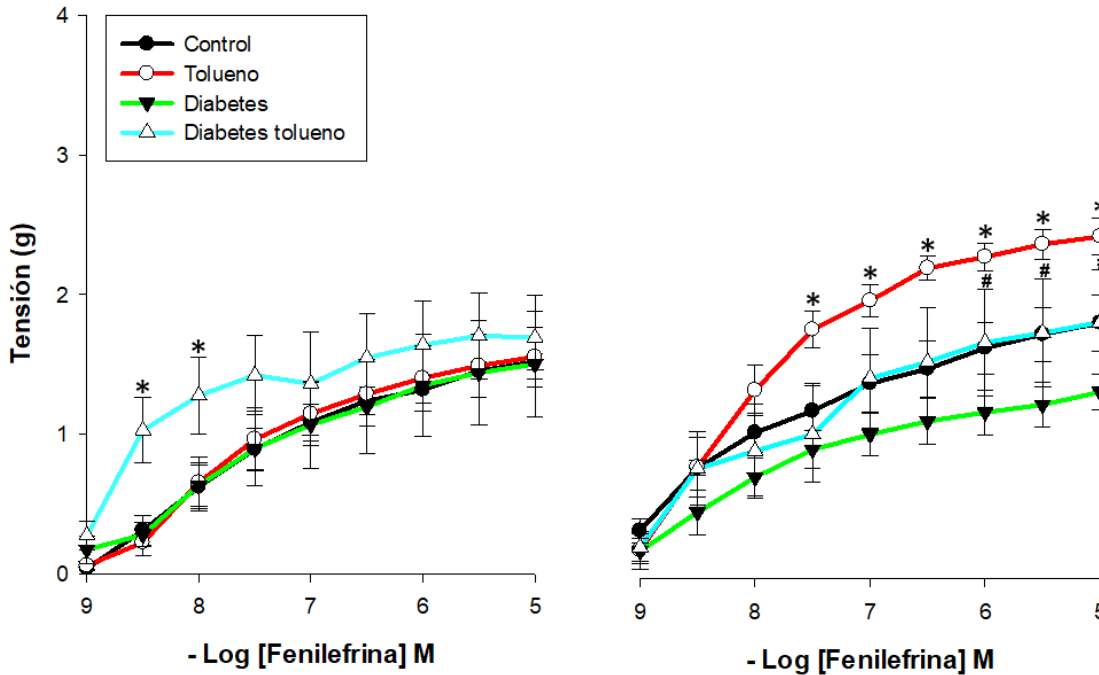


Figura 15. Curvas concentración-respuesta a fenilefrina, donde se muestra la contracción de la aorta con y sin endotelio en ratas control (Control), ratas expuestas crónicamente a tolueno (Tolueno), ratas inducidas a diabetes (Diabetes) y ratas diabéticas expuestas crónicamente a tolueno (Diabetes tolueno). Los datos se analizaron por medio de un análisis de varianza de dos vías (ANOVA), seguido de una prueba post hoc (Tukey) y se expresan como los promedios  $\pm$  e.e de  $n=6$ . A) \*=  $p<0.05$  vs diabetes; B) \*=  $p<0.05$  vs control vs diabetes vs diabetes tolueno; #=  $p<0.05$  diabetes tolueno vs diabetes

En la **Figura 15A** (exposición crónica, aortas con endotelio) se observó que la fenilefrina ejerce un aumento en la respuesta contráctil de la aorta de manera dependiente de la concentración de fenilefrina en los diferentes grupos experimentales, hasta llegar a un efecto máximo. Al realizar el análisis estadístico de los datos por medio de un análisis de varianza de dos vías (ANOVA) seguido de una prueba post hoc (Tukey) se obtuvieron diferencias significativas ( $p<0.05$ ), comparando los grupos experimentales, las diferentes concentraciones crecientes de fenilefrina (M) y la tensión (g); de acuerdo a la **figura 15A** se logra observar que existen diferencias

significativas ( $p < 0.05$ ) cuando se comparan los diferentes grupos a diferentes concentraciones, como lo es el caso del grupo de ratas diabéticas expuestas a tolueno vs todos los demás grupos, lo que nos estaría indicando que cuando las ratas diabéticas son expuestas a tolueno de forma crónica se presenta daño en el endotelio, generando una mayor tensión. Los demás grupos siguen teniendo modulación por parte del endotelio, por lo cual no existen diferencias significativas.

*En la **Figura 15B*** (exposición crónica, aortas sin endotelio) se observó que la fenilefrina ejerce un aumento en la respuesta contráctil de la aorta de manera dependiente de la concentración de fenilefrina en los diferentes grupos experimentales, hasta llegar a un efecto máximo. Al realizar el análisis estadístico de los datos por medio de un análisis de varianza de dos vías (ANOVA) seguido de una prueba post hoc (Tukey) se obtuvieron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), al comparar los grupos experimentales crónicos, las diferentes concentraciones crecientes de fenilefrina (M) y la tensión (g); de acuerdo a la ***figura 15B*** se observa que sí existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) cuando se comparan los diferentes grupos a diferentes concentraciones, lo cual se aprecia en el grupo diabetes expuesto a aire vs el grupo diabetes expuesto a tolueno, donde existe un aumento estadísticamente significativo ( $p < 0.05$ ) en la tensión del grupo diabetes-tolueno en las concentraciones  $1 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-5.5}$  y  $1 \times 10^{-5}$ , lo que nos indicaría que sí existe un aumento en la respuesta vascular adrenérgica cuando las ratas diabéticas se exponen a tolueno. Cabe mencionar que el grupo de ratas que fue expuesto a 6000 ppm de tolueno de manera crónica tuvo el mayor efecto máximo de entre los 4 grupos, lo cual significa que tuvo una mayor contracción vascular mediada por los receptores  $\alpha_1$ .

### Ratas control + endotelio

### Ratas control - endotelio

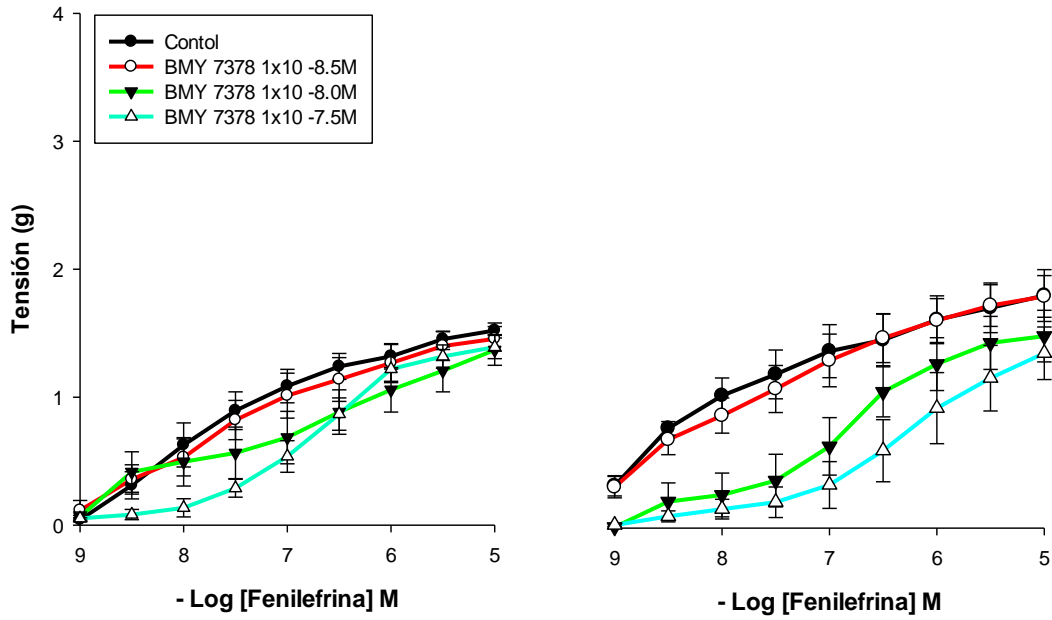
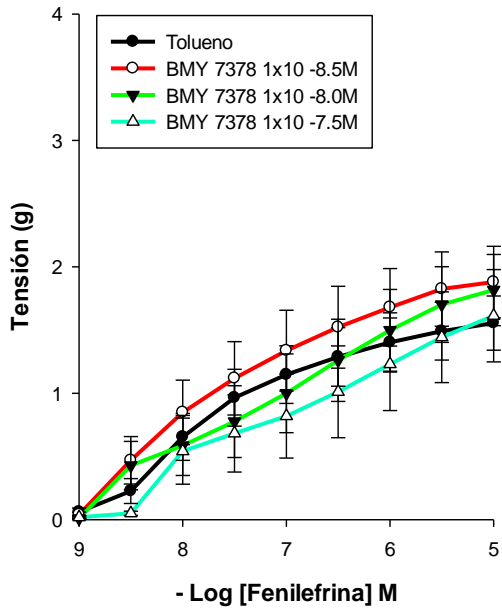


Figura 16. Curvas concentración-respuesta para el efecto del BMY 7378 sobre la contracción de la aorta (con y sin endotelio) inducida por concentraciones crecientes de fenilefrina en ratas control (Control, expuestas a aire de manera crónica). Los datos se expresan como el promedio  $\pm$  e.e. de  $n=6$ .

Ratas tolueno + endotelio



Ratas tolueno - endotelio

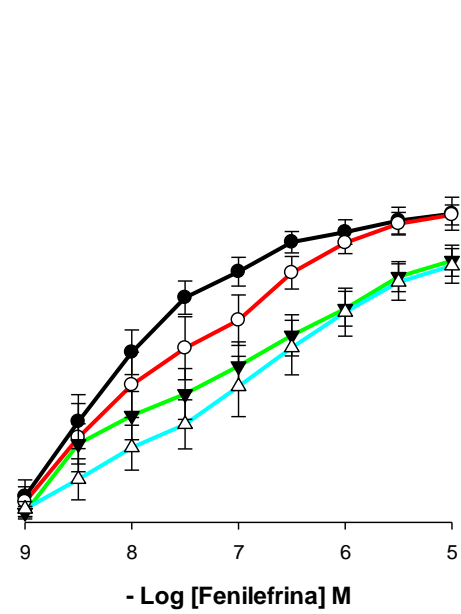


Figura 17. Curvas concentración-respuesta para el efecto del BMY 7378 sobre la contracción de la aorta con endotelio y sin endotelio inducida por concentraciones crecientes de fenilefrina en ratas expuestas a tolueno (Tolueno, expuestas a 6000 ppm de manera crónica). Los datos se expresan como el promedio  $\pm$  e.e. de  $n=6$ .

### Ratas diabetes + endotelio

### Ratas diabetes - endotelio

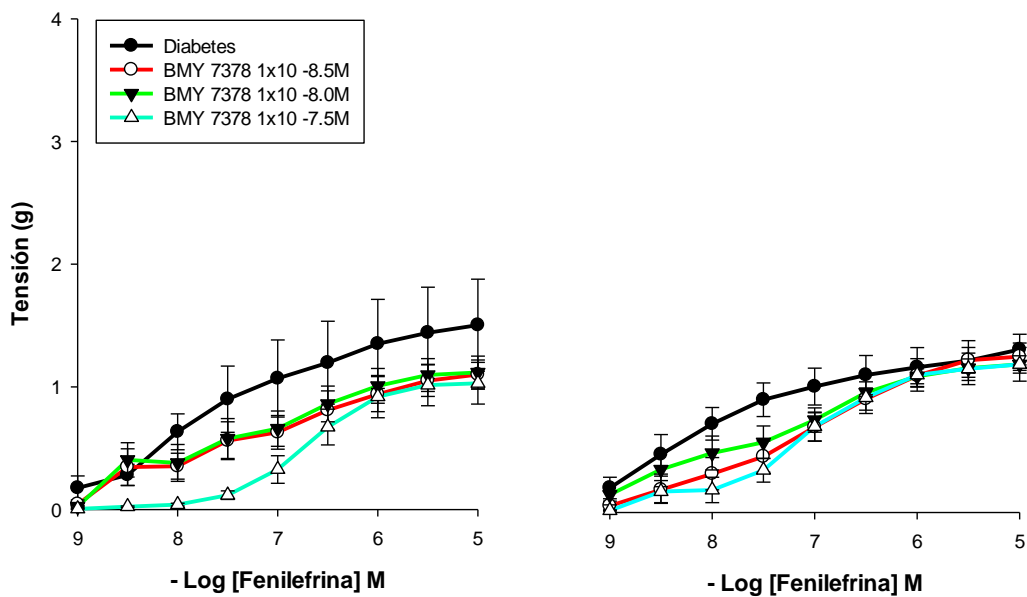


Figura 18. Curvas concentración-respuesta para el efecto del BMY 7378 sobre la contracción de la aorta (con y sin endotelio) inducida por concentraciones crecientes de fenilefrina en ratas inducidas a diabetes (Diabetes, expuestas a aire de manera crónica). Los datos se expresan como el promedio  $\pm$  e.e. de  $n=6$ .

### Ratas Diabetes tolueno + endotelio

### Ratas Diabetes tolueno - endotelio

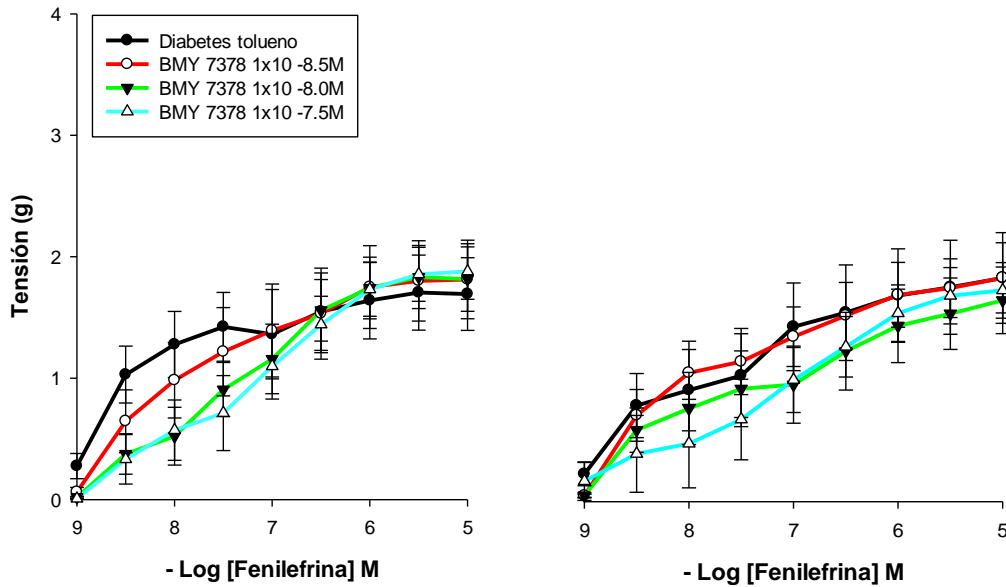


Figura 19. Curvas concentración-respuesta para el efecto del BMY 7378 sobre la contracción de la aorta (con y sin endotelio) inducida por concentraciones crecientes de fenilefrina en ratas diabéticas expuestas a 6000 ppm de tolueno de manera crónica (Diabetes tolueno). Los datos se expresan como el promedio  $\pm$  e.e. de  $n=6$ .

En la **Figuras 16, 17, 18 y 19** se muestran las curvas concentración-respuesta de los grupos de la exposición crónica en presencia de BMY 7378 (antagonista selectivo  $\alpha_{1D}$ ) sobre la contracción de la aorta con y sin endotelio inducida por concentraciones crecientes de fenilefrina en las ratas control expuestas 4 semanas a aire (grupo control) (fig. 16), ratas expuestas a 6000 ppm de tolueno por 4 semanas (grupo tolueno) (fig. 17), ratas diabéticas expuestas solamente a aire por 4 semanas (grupo diabetes) (fig. 18) y ratas diabéticas que fueron expuestas a 6000 ppm de tolueno por 4 semanas (grupo diabetes tolueno) (fig. 19). Se logró observar que la fenilefrina generó una contracción dependiente de la concentración administrada y que esta contracción se ve inhibida con cada una de las concentraciones del antagonista BMY 7378 a través de un desplazamiento de las curvas hacia la derecha, lo cual nos estaría indicando la participación de los receptores adrenérgicos  $\alpha_{1D}$  a través de un antagonismo competitivo

en cada uno de los grupos. Aunque se logra observar el desplazamiento hacia la derecha por parte de las curvas concentración respuesta en presencia del BMY 7378 en los diferentes grupos no se observó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los valores de afinidad.

### 10.3 Análisis de efectos máximos y valores de afinidad ( $pK_B$ )

#### 10.3.1 Estimulación con fenilefrina en aortas con endotelio de los grupos de exposición subaguda

Al ser comparados los efectos máximos en respuesta a la fenilefrina de los diferentes grupos experimentales (control, tolueno, diabetes, diabetes-tolueno) de aortas con endotelio de animales expuestos de manera subaguda a tolueno o a aire, no se observan diferencias estadísticamente significativas (tabla 5A).

Los valores de  $pK_B$ , al ser muy similares entre los cuatro grupos, tampoco nos indican que existan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los valores de afinidad de dichos grupos (tabla 5B).

*Tabla 3. Efectos máximos en los anillos de aorta con endotelio en los grupos de exposición subaguda.*

Con endotelio	Efectos máximos de la exposición subaguda (g)			
	Control	Tolueno	Diabetes	Diabetes tolueno
Fenilefrina	1.53 ±0.22	1.75 ±0.30	2.10 ±0.22	2.04 ±0.26

*Tabla 4 Valores de afinidad ( $pK_B$ ) de las curvas concentración respuesta a fenilefrina con presencia de BMY 7378 en los anillos de aorta con endotelio en los grupos de exposición subaguda.*

Con endotelio	Valores de afinidad de la exposición subaguda			
	Control	Tolueno	Diabetes	Diabetes tolueno
$pK_B$	8.17 ± 0.32	8.27 ± 0.27	8.16 ± 0.31	8.12 ± 0.28

### 10.3.2 Estimulación con fenilefrina en aortas sin endotelio de los grupos de exposición subaguda

Al ser comparados los efectos máximos en respuesta a la estimulación con fenilefrina de los diferentes grupos experimentales (control, tolueno, diabetes, diabetes-tolueno) de aortas sin endotelio de animales expuestos de manera subaguda a tolueno o a aire, se observó que el grupo de ratas control expuestas solamente a aire presentó un valor de  $1.61 \pm 0.20$  g, mientras que el grupo de ratas expuestas a tolueno tuvo un valor de  $1.49 \pm 0.32$  g, siendo el efecto máximo de estos grupos significativamente menor (@, \*=  $p < 0.05$ ) al ser comparados de manera individual vs el grupo diabetes, que presentó un valor de  $2.66 \pm 0.33$  g. Al compararse los diferentes grupos se observaron diferencias estadísticamente significativas, lo que indica que hay una diferencia de eficacia de la fenilefrina en los distintos tratamientos (tabla 6).

Al realizar la comparación de los valores de afinidad de los efectos en los anillos de aorta sin endotelio de la exposición subaguda no se logran observar diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los cuatro grupos (tabla 7).

*Tabla 5. Efectos máximos en los anillos de aorta sin endotelio en los grupos de exposición subaguda.*

Sin endotelio	Efectos máximos de la exposición subaguda (g)			
Fenilefrina	Control	Tolueno	Diabetes	Diabetes tolueno
	$1.61 \pm 0.20$	$1.49 \pm 0.32$	$2.66 \pm 0.32^*$	$1.87 \pm 0.16$
(*) $p < 0.05$ vs. Grupo Control, Tolueno y Diabetes tolueno				

*Tabla 6. Valores de afinidad ( $pK_B$ ) de las curvas concentración respuesta a fenilefrina con presencia de BMY 7378 en los anillos de aorta sin endotelio en la exposición subaguda.*

Sin endotelio	Valores de afinidad de la exposición subaguda			
$pK_B$	Control	Tolueno	Diabetes	Diabetes tolueno
	$8.20 \pm 0.24$	$8.24 \pm 0.29$	$8.18 \pm 0.32$	$8.15 \pm 0.23$

### 10.3.3 Estimulación con fenilefrina en aortas con endotelio de los grupos de exposición crónica

Al ser comparados los efectos máximos en respuesta a la fenilefrina de los diferentes grupos experimentales en aortas con endotelio provenientes de animales tratados crónicamente se observó que los anillos de aorta del grupo de ratas expuestas a tolueno presentó un valor máximo de contracción de  $1.37 \pm 0.14$  g, mientras que el grupo de ratas diabéticas que fueron expuestas solamente a aire presentaron un valor de  $1.07 \pm 0.08$  g, siendo el efecto máximo de estas dos estadísticamente menor (@, \*=  $p < 0.05$ ) que el grupo diabetes-tolueno, que obtuvo un valor de  $1.87 \pm 0.3$  g, teniendo la fenilefrina mayor eficacia hacia este último (tabla 8).

Al comparar los valores de afinidad de los cuatro grupos de los anillos de aorta con endotelio de la exposición crónica no se lograron observar diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los diferentes grupos (tabla 9).

Tabla 7. Efectos máximos en los anillos de aorta con endotelio en los grupos de exposición crónica.

Con endotelio	Efectos máximos de la exposición crónica (g)			
Fenilefrina	Control	Tolueno	Diabetes	Diabetes tolueno
	$1.48 \pm 0.05$	$1.37 \pm 0.14$ *	$1.07 \pm 0.08$ @	$1.87 \pm 0.3$ *@
(@, *) $p < 0.05$ vs. Grupo Diabetes Tolueno				

Tabla 8. Valores de afinidad ( $pK_B$ ) de las curvas concentración respuesta a fenilefrina con presencia de BMY 7378 en los anillos de aorta con endotelio en los grupos de exposición crónica.

Con endotelio	Valores de afinidad de la exposición crónica			
$pK_B$	Control	Tolueno	Diabetes	Diabetes tolueno
	$8.15 \pm 0.34$	$8.14 \pm 0.26$	$8.12 \pm 0.39$	$8.13 \pm 0.29$

### 10.3.4 Estimulación con fenilefrina en aortas sin endotelio de los grupos de exposición crónica

Al ser comparados los efectos máximos de los diferentes grupos experimentales en aortas sin endotelio durante la exposición crónica, en

respuesta a la fenilefrina se observó que el grupo de ratas tolueno presentó un valor de  $2.42 \pm 0.13$  g, mientras que el grupo de ratas diabetes-tolueno presentó un valor de  $2.09 \pm 0.31$  g, siendo el efecto máximo de estas dos estadísticamente mayor (@, \*=  $p < 0.05$ ) que el grupo diabetes que sólo se expuso a aire, ya que obtuvo un valor de  $1.33 \pm 0.12$  g, teniendo la fenilefrina menor eficacia hacia este último (tabla 10). Por otro lado, cuando se realizó la comparación del valor de afinidad de los cuatro grupos de aortas sin endotelio no se logró observar ninguna diferencia significativa (tabla 11).

Tabla 9. Efectos máximos en los anillos de aorta sin endotelio de los grupos de exposición crónica.

Sin endotelio	Efectos máximos de la exposición crónica (g)			
	Control	Tolueno	Diabetes	Diabetes tolueno
Fenilefrina	$1.81 \pm 0.20$	$2.42 \pm 0.13^*$	$1.33 \pm 0.12^{*}@$	$2.09 \pm 0.31@$
(@, *) $p < 0.05$ vs. Grupo Tolueno y Diabetes tolueno				

Tabla 10. Valores de afinidad ( $pK_B$ ) de las curvas concentración respuesta a fenilefrina con presencia de BMY 7378 en los anillos de aorta sin endotelio en los grupos de exposición crónica.

Sin endotelio	Valores de afinidad de la exposición crónica			
	Control	Tolueno	Diabetes	Diabetes tolueno
$pK_B$	$8.13 \pm 0.27$	$8.13 \pm 0.22$	$8.16 \pm 0.29$	$8.17 \pm 0.18$

## 10.4 Comparación de los efectos en la contracción vascular de los anillos de aorta de los grupos de exposición subaguda vs crónica

### 10.4.1 Comparación de los anillos de aorta con endotelio (exposición subaguda vs crónica)

#### Anillos de aorta con endotelio de ratas control

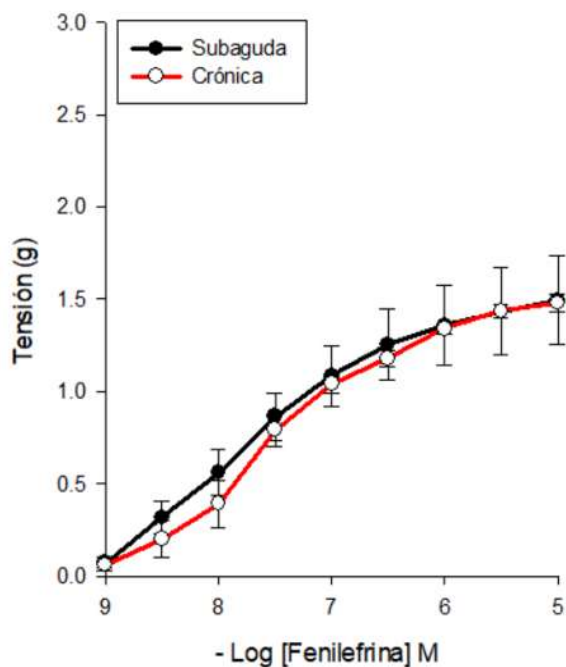


Figura 20. Curvas concentración-respuesta a fenilefrina, donde se muestra la comparación de tensión (g) de los anillos de aorta con endotelio de los grupos de ratas control expuestos a aire de manera subaguda y crónica. Los datos se analizaron por medio de un análisis de varianza de dos vías (ANOVA), seguido de una prueba post hoc (Tukey) y se expresan como los promedios  $\pm$  e.e

### Anillos de aorta con endotelio de ratas expuestas a tolueno

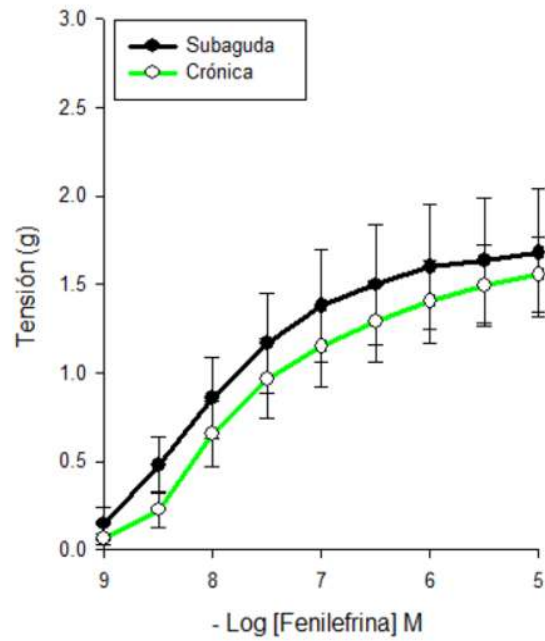


Figura 21. Curvas concentración-respuesta a fenilefrina, donde se muestra la comparación de tensión (g) de los anillos de aorta con endotelio de los grupos de ratas expuestas a 6000 ppm de tolueno de manera subaguda y crónica. Los datos se analizaron por medio de un análisis de varianza de dos vías (ANOVA), seguido de una prueba post hoc (Tukey) y se expresan como los promedios  $\pm$  e.e

### Anillos de aorta con endotelio de ratas diabéticas

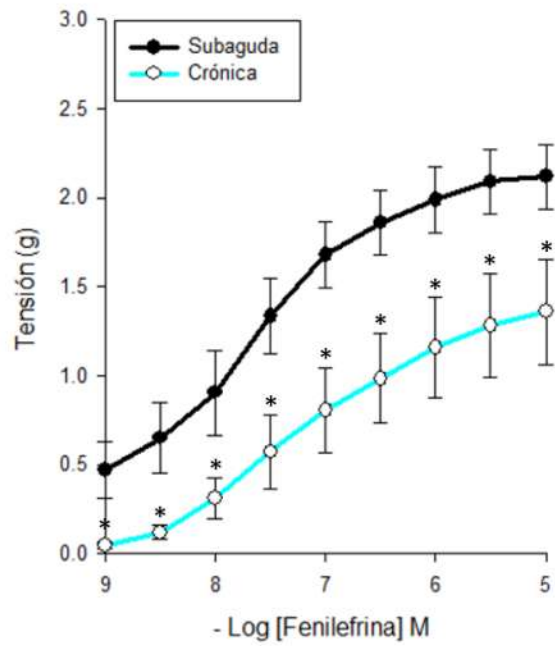


Figura 22 Curvas concentración-respuesta a fenilefrina, donde se muestra la comparación de tensión (g) de los anillos de aorta con endotelio de los grupos de ratas diabéticas expuestas a aire de manera subaguda y crónica. Los datos se analizaron por medio de un análisis de varianza de dos vías (ANOVA), seguido de una prueba post hoc (Tukey) y se expresan como los promedios  $\pm$  e.e (\*= $p < 0.05$ )

### Anillos de aorta con endotelio de ratas diabéticas expuestas a tolueno

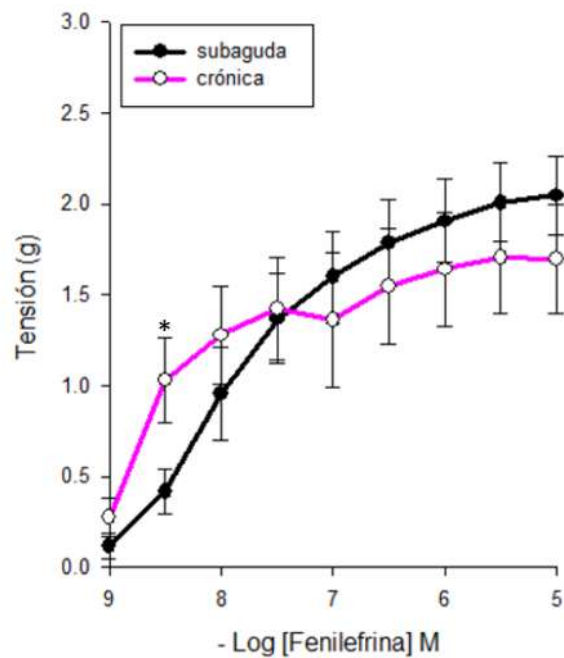


Figura 23. Curvas concentración-respuesta a fenilefrina, donde se muestra la comparación de tensión (g) de los anillos de aorta con endotelio de los grupos de ratas diabéticas expuestas a 6000 ppm de tolueno de manera subaguda y crónica. Los datos se analizaron por medio de un análisis de varianza de dos vías (ANOVA), seguido de una prueba post hoc (Tukey) y se expresan como los promedios  $\pm$  e.e. (\*= $p < 0.05$ )

En las **figuras 20, 21, 22 y 23** se muestran comparaciones de las curvas concentración-respuesta de la contracción inducida por concentraciones crecientes de fenilefrina en anillos de aorta con endotelio en los grupos de ratas control (fig. 20), tolueno (fig. 21), diabetes (fig. 22) y diabetes tolueno (fig. 23) expuestas 1 semana (exposición subaguda) y 4 semanas (exposición crónica). En las figuras se logra apreciar cómo se genera una contracción dependiente de la concentración de fenilefrina hasta llegar a un efecto máximo. En las figuras 20 y 21 (grupos control y tolueno, respectivamente) no se aprecian diferencias significativas entre la exposición subaguda y la crónica. En la figura 22, cuando se comparan la contracción de los anillos de aorta de ratas diabéticas de la exposición subaguda y de la crónica, se logran observar diferencias significativas en todas las concentraciones de fenilefrina, donde el efecto mayor se produce

en los anillos de aorta de ratas diabéticas de la exposición subaguda, en comparación con los de la exposición crónica; por su parte, en la figura 23, cuando se comparan los grupos de ratas diabéticas expuestas a tolueno en tratamiento subagudo y crónico se observa que sólo en la concentración  $1 \times 10^{-8.5}$  M de fenilefrina existen diferencias significativas, teniendo el mayor efecto el grupo de ratas diabéticas expuestas a tolueno de manera crónica ( $p < 0.05$ ).

#### 10.4.2 Comparación de los anillos de aorta sin endotelio (exposición subaguda vs crónica)

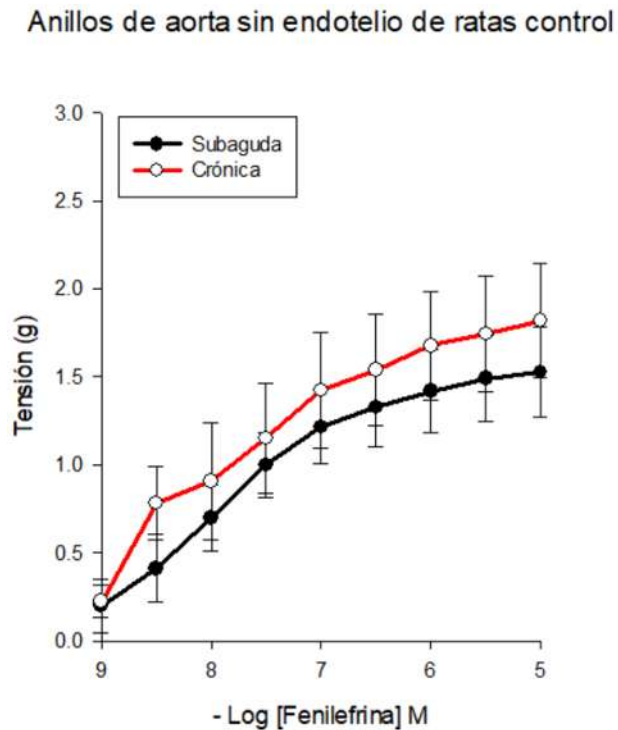


Figura 24. Curvas concentración-respuesta a fenilefrina, donde se muestra la comparación de tensión (g) de los anillos de aorta sin endotelio de los grupos de ratas control expuestas a aire de manera subaguda y crónica. Los datos se analizaron por medio de un análisis de varianza de dos vías (ANOVA), seguido de una prueba post hoc (Tukey) y se expresan como los promedios  $\pm$  e.e

### Anillos de aorta sin endotelio de ratas expuestas a tolueno

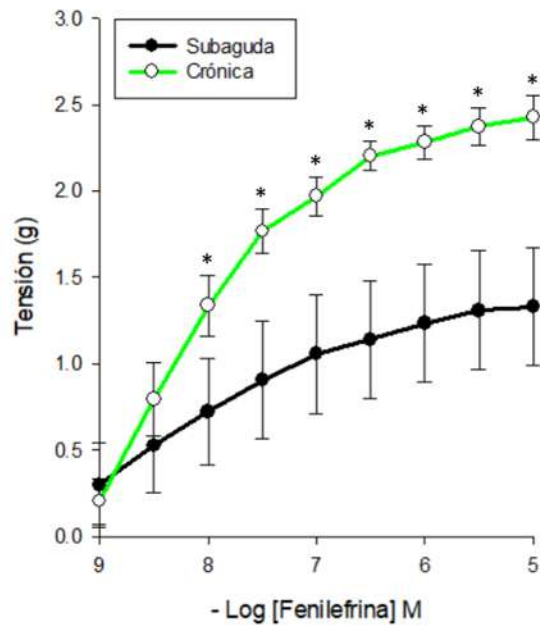


Figura 25. Curvas concentración-respuesta a fenilefrina, donde se muestra la comparación de tensión (g) de los anillos de aorta sin endotelio de los grupos de ratas expuestas a 6000 ppm de tolueno de manera subaguda y crónica. Los datos se analizaron por medio de un análisis de varianza de dos vías (ANOVA), seguido de una prueba post hoc (Tukey) y se expresan como los promedios  $\pm$  e.e. (\*= $p < 0.05$ )

## Anillos de aorta sin endotelio de ratas diabéticas

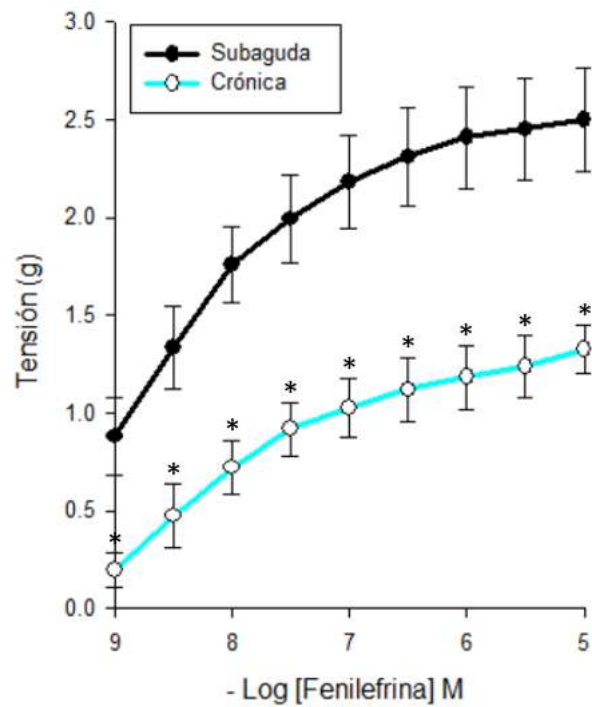


Figura 26. Curvas concentración-respuesta a fenilefrina, donde se muestra la comparación de tensión (g) de los anillos de aorta sin endotelio del grupo de ratas diabéticas expuestas de manera subaguda y crónica a aire. Los datos se analizaron por medio de un análisis de varianza de dos vías (ANOVA), seguido de una prueba post hoc (Tukey) y se expresan como los promedios  $\pm$  e.e. (\*= $p < 0.05$ )

## Anillos de aorta sin endotelio de ratas con diabetes expuestas a tolueno

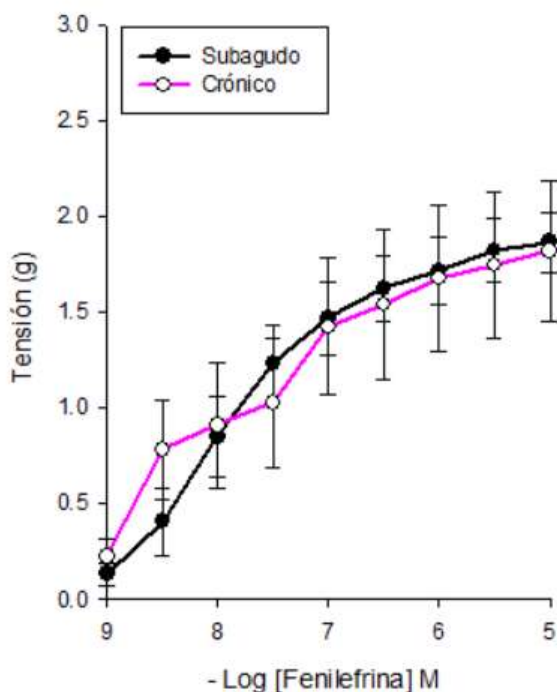


Figura 27. Curvas concentración-respuesta a fenilefrina, donde se muestra la comparación de tensión (g) de los anillos de aorta sin endotelio del grupo de ratas diabéticas expuestas a 6000 ppm de tolueno de manera subaguda y crónica. Los datos se analizaron por medio de un análisis de varianza de dos vías (ANOVA), seguido de una prueba post hoc (Tukey) y se expresan como los promedios  $\pm$  e.e

En las **figuras 24, 25, 26 y 27** se muestran las comparaciones de las curvas concentración-respuesta sobre la contracción de anillos de aorta sin endotelio inducida por concentraciones crecientes de fenilefrina en los grupos de ratas control (fig. 24), tolueno (fig. 25), diabetes (fig. 26) y diabetes tolueno (fig. 27) expuestas 1 semana (exposición subaguda) y 4 semanas (exposición crónica). En todas las figuras se logra apreciar cómo se genera una contracción dependiente de la concentración de fenilefrina hasta llegar a un efecto máximo. En las figuras 24 y 27 (grupos control y diabetes tolueno) no hubo diferencias significativas entre la exposición subaguda y crónica. En la figura 25, cuando se comparan los grupos expuestos a tolueno de manera subaguda y crónica, se observa un aumento ( $p < 0.05$ ) en la respuesta contráctil en los anillos de aorta

expuestos a 6000 ppm de tolueno de manera crónica a partir de la concentración  $1 \times 10^{-8}$  M hasta la concentración de  $1 \times 10^{-5}$  M de fenilefrina, en comparación con los anillos de aorta de la exposición subaguda a tolueno. Por otro lado, en la figura 26 se logran observar diferencias significativas en todas las concentraciones de fenilefrina cuando se comparan los grupos diabéticos de la exposición subaguda y crónica, presentándose un efecto mayor en el grupo de ratas de la exposición subaguda.

#### 10.4.3 Comparación de los efectos máximos de la contracción de los anillos de aorta con endotelio de los grupos de exposición subaguda y crónica

En la comparación de los efectos máximos de la contracción de los anillos de aorta con endotelio durante la exposición subaguda y crónica observa en los grupos control, tolueno y diabetes tolueno que no hay diferencias significativas entre los grupos, mientras que cuando se realizó la comparación de los grupos de ratas diabéticas sí se logró observar que en los anillos de aorta de los animales de la exposición crónica se tiene un efecto máximo significativamente menor ( $p < 0.05$ ) comparado con los de la exposición subaguda.

*Tabla 11 Comparación de los efectos máximos de las curvas concentración respuesta a fenilefrina en los anillos de aorta con endotelio en la exposición subaguda y exposición crónica*

Comparación de efectos máximos		
Con endotelio	Exposición subaguda	Exposición crónica
Control	1.53 ± 0.22	1.48 ± 0.05
Tolueno	1.75 ± 0.30	1.37 ± 0.14
Diabetes	2.10 ± 0.22	1.07 ± 0.08*
Diabetes tolueno	2.04 ± 0.26	1.87 ± 0.3
(*) $p < 0.05$ vs grupo diabetes subagudo		

#### 10.4.4 Comparación de los efectos máximos de la contracción de los anillos de aorta sin endotelio de los grupos de exposición subaguda y crónica

En la comparación de los efectos máximos de la contracción de los anillos de aorta sin endotelio durante la exposición subaguda y crónica se observa en los grupos control y diabetes tolueno que no hay diferencias significativas entre los grupos, mientras que cuando se realizó la comparación de los grupos tolueno se logra observar que en los anillos de aorta de los animales de la exposición crónica se tiene un efecto máximo significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) comparado con los de la exposición subaguda. Por otro lado, en la comparación de los grupos diabetes se logra observar que en los anillos de aorta de los animales de la exposición crónica se tiene un efecto máximo significativamente menor ( $p < 0.05$ ) comparado con los de la exposición subaguda.

*Tabla 12 Comparación de los efectos máximos de las curvas concentración respuesta a fenilefrina en los anillos de aorta sin endotelio en la exposición subaguda y exposición crónica*

Comparación de efectos máximos		
Sin endotelio	Exposición subaguda	Exposición crónica
Control	1.61 ± 0.20	1.81 ± 0.20
Tolueno	1.49 ± 0.32	2.42 ± 0.13*
Diabetes	2.66 ± 0.32	1.33 ± 0.12#
Diabetes tolueno	1.87 ± 0.16	2.09 ± 0.31
(*) $p < 0.05$ vs grupo Tolueno subagudo (#) $p < 0.05$ vs grupo Diabetes subagudo		

## 10 Discusión

Es bien conocido que la diabetes mellitus genera diversas consecuencias entre las personas que la padecen, siendo las afecciones cardiovasculares de los padecimientos más comunes entre la población en México. Al igual que la diabetes mellitus, el consumo de diversas drogas de abuso en nuestro país cada vez se ha convertido en un problema de mayor impacto, afectando a jóvenes y a adultos. La existencia y el consumo de las diversas drogas de abuso generan diferentes consecuencias que no son del todo conocidas y con el surgimiento de nuevas drogas el panorama se complica aún más para las personas que las estudian. En México, al no estar estrictamente regulada la venta de algunas sustancias como el tabaco, el alcohol y los inhalables, estas drogas de abuso se convierten en unas de las preferidas por la población. Al haber un fácil acceso a las drogas de abuso, el consumo de éstas inicia desde la niñez y la adolescencia, lo que genera aún mayor preocupación entre la población y el personal de salud. Aunque no se conocen cifras exactas, es común que las personas lleguen a consumir algún tipo de droga, como lo son los inhalables, mientras tienen algún otro padecimiento. Además, el consumo de drogas es un posible factor de riesgo para la presentación de diversas enfermedades, como puede ser la diabetes mellitus. No existen datos donde se observe qué es lo que sucede cuando está presente la diabetes y se consumen inhalables, por lo que se desconocen las consecuencias que puedan llegar a generar a nivel vascular; por lo tanto, los resultados derivados de esta investigación ayudarán a dar un panorama más claro sobre la reactividad vascular adrenérgica en la aorta de ratas con diabetes mellitus expuestas a tolueno.

La inducción de diabetes se realizó a través del modelo experimental donde se inyectaron 50 mg/kg de stz via i.p, posteriormente se realizó la evaluación de las concentraciones de glucosa, al igual que el peso de los animales de los diferentes grupos, y con base en estos datos se comprobó la presencia de diabetes, considerando que la concentración de glucosa promedio de las ratas diabéticas del grupo de exposición subaguda fue de 428.7 mg/dl, mientras que el grupo de ratas diabéticas de la exposición crónica fue de 587.5 mg/dl, por lo que ambos casos se pudieron considerar como hiperglicemia severa (Deeds et al., 2011; Furman, 2015). El peso de las ratas también se vio afectado, principalmente en las ratas de los grupos de exposición crónica, ya que las ratas control no diabéticas tuvieron un incremento de peso al pasar las semanas, hasta llegar a un peso promedio de 349.5 g, mientras que los grupos de ratas diabéticas crónicas mantuvieron su peso inicial, con un promedio de 247.5 g, en donde además de la disminución del peso, las ratas diabéticas también presentaron síntomas como polidipsia y poliuria (Flood et al., 1990).

En la presente investigación, los resultados obtenidos a partir de las curvas concentración respuesta a fenilefrina se dividen en tres: la exposición subaguda, la exposición crónica y la comparación entre estas dos, en donde de acuerdo con nuestros objetivos lo primero fue evaluar el efecto de la exposición subaguda a tolueno sobre la respuesta vascular adrenérgica en la aorta de ratas con diabetes, en donde resaltaron los siguientes datos:

- La mitad de los anillos de aortas provenientes de animales expuestos de manera subaguda permaneció con el endotelio, en donde para esta mitad de anillos no se logró observar ninguna diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) en cuanto a los efectos máximos de tensión entre los diferentes grupos, lo cual se lo podemos atribuir al correcto funcionamiento del endotelio y que éste sigue realizando una de sus funciones como vaso modulador. El endotelio es generador de una amplia gama de compuestos (óxido nítrico, prostaciclina, etc.) y señales vasoactivas (Vanhoutte et al., 2013), y estos elementos

presentes en el endotelio son los encargados de ajustar el flujo sanguíneo, modulando la vasoconstricción (Vanhoutte et al., 2017; Khaddaj et al., 2017). Estos resultados coinciden con los reportados por León en 2008, en donde al realizar curvas concentración respuesta a fenilefrina, estando presente el endotelio en los anillos de aorta, no se lograron observar diferencias significativas entre los diferentes grupos (control, tolueno, diabetes, diabetes tolueno).

- A la segunda mitad de los anillos de aorta se les removió el endotelio para que se pudieran apreciar los efectos sin tener un vaso modulador (endotelio), que ajustara la tensión de los anillos de aorta. En estos datos se observó que los grupos control, tolueno y diabetes tolueno tuvieron una contracción similar, mientras que cuando se compararon estos grupos con el grupo diabetes este último obtuvo una mayor tensión, como lo reportó Lee y colaboradores en 2011, donde observan que las concentraciones crecientes a fenilefrina en ratas diabéticas generan un aumento en la respuesta vascular adrenérgica en los anillos de aorta (Lee et al., 2011). Otro dato que se aprecia en este estudio es que las ratas diabéticas expuestas a tolueno tienen un efecto significativamente menor que las ratas con sólo diabetes, lo cual se puede deber a que al ser expuestas las ratas diabéticas a tolueno este último genere una disminución en la cantidad de receptores o una internalización de receptores adrenérgicos de la membrana celular del musculo liso vascular. En nuestros datos se muestra una tendencia hacia la disminución de tensión en los anillos de aorta de ratas expuestas a tolueno, lo que también se observó en los datos de Ceja en 2022, por lo cual se considera que el tolueno, en condiciones de exposición subaguda, podría estar promoviendo la generación de compuestos como el óxido nítrico, que generen una disminución de la tensión en los anillos de aorta (Ceja, 2022).
- Al realizar las curvas concentración respuesta con presencia de BMY 7378 (antagonista selectivo  $\alpha_{1D}$  adrenérgico) en los grupos de

exposición subaguda, se observó un desplazamiento de las curvas hacia la derecha, pero al analizar los datos no hubo diferencias en el  $pK_B$ , por lo cual se sugiere que no existe un aumento en la expresión y participación de los receptores  $\alpha_{1D}$  adrenérgicos en la membrana celular; en este sentido, los datos coinciden con lo publicado por Rodríguez y colaboradores en 2013 en donde analizan la expresión de receptores, a través de Western blot, y observan que no existen diferencias significativas en la expresión de receptores adrenérgicos  $\alpha_{1D}$  cuando se compara el grupo con diabetes temprana con el control (Rodríguez, 2013).

En los resultados obtenidos para el segundo de nuestros objetivos, que fue evaluar el efecto de la exposición crónica a tolueno sobre la respuesta vascular adrenérgica en la aorta de ratas con diabetes, resaltan los siguientes datos:

- En los anillos de aorta que conservaron el endotelio se observó que en los grupos control, tolueno y diabetes tolueno se mantuvo la misma tensión, atribuyendo esto a la vaso modulación generada por el endotelio (Michiels, 2003; Ugusman et al., 2021); mientras que en el grupo de ratas diabetes tolueno se produjo un aumento en la tensión de manera significativa en algunas concentraciones de fenilefrina, en comparación con los demás grupos, por lo que se sugiere que cuando está presente la diabetes y se realiza una exposición crónica a tolueno se genera daño endotelial. El daño endotelial ha sido reportado por diversos autores, sobre todo cuando hay presencia de diabetes, afectando principalmente al óxido nítrico. Existen muchas causas que pueden llegar a provocar una disminución del óxido nítrico, ya que esto puede suceder por haber una mayor concentración de vasoconstrictores como la endotelina 1, los prostanoides o las especies reactivas de oxígeno (EROs). Estos últimos pueden aumentar en la diabetes y cuando existe una exposición a hidrocarburos ciclados como

el tolueno, siendo ésta una posible causa del comportamiento observado en las curvas a fenilefrina (Hink et al., 2001; Rösen, P. et al., 2001).

- A la mitad de los anillos de aorta de los animales de los grupos que tuvieron exposición crónica se les removió el endotelio y se observó que hubo un aumento en la tensión en el grupo de ratas expuestas a tolueno cuando se compararon con los anillos de aorta de los demás grupos, aunque al realizar el análisis estadístico no se lograron ver diferencias significativas. En donde sí se presentaron diferencias estadísticamente significativas fue durante la comparación del grupo diabetes vs el grupo diabetes tolueno, ya que este último tuvo un comportamiento similar al grupo control pero mostró un aumento en el efecto máximo en comparación con el grupo de ratas diabéticas. Se aprecia que hubo un aumento en la respuesta vascular adrenérgica tanto en el grupo tolueno como en el grupo diabetes tolueno, ya que en ambos casos se observa un efecto mayor que el del grupo de ratas diabéticas; mientras que en el grupo de ratas con diabetes crónica se observó que disminuyó la tensión, coincidiendo con los datos de León y colaboradores en 2008 y difiriendo con los de Lee y colaboradores en 2011, lo cual puede ser debido al tiempo de evolución de la diabetes, como lo reporta Schulingkamp y colaboradores en 2005 en la diabetes experimental de 4 semanas en ratas (Lee et al., 2011; León et al., 2008; Schulingkamp et al., 2005).

Para la evaluación de los resultados obtenidos dentro del tercer objetivo se realizó una comparación de los efectos en los anillos de aorta con y sin endotelio, tanto para la exposición subaguda como crónica, encontrándose lo siguiente:

- En la comparación de los anillos de aorta con endotelio de los grupos de exposición subaguda vs crónica no se logró ver ninguna diferencia significativa en los grupos control, al igual que en los grupos tolueno. Cuando se realizó esta misma comparación en los anillos de aorta de

los grupos de ratas con diabetes sí se observa una diferencia significativa en todas las concentraciones, teniendo una mayor respuesta a la fenilefrina los anillos de aorta con endotelio durante la diabetes subaguda, lo que difiere con diversos artículos en donde reportan una mayor respuesta durante la diabetes crónica, como en los artículos de Lee en 2011 y Rodríguez en 2020, aunque existen reportes indicando que la diabetes tipo 1 subaguda genera daño endotelial, sobre todo en adolescentes (Hoffman, 2014). Lo anterior se puede atribuir al método de inducción de diabetes, al igual que el tiempo de exposición. Por otro lado, cuando se realiza la comparación de los anillos de aorta de ratas diabéticas expuestas a tolueno se aprecia que sólo en una de las concentraciones ( $1 \times 10^{-8.5}$  M) hubo diferencias significativas, observándose el mayor efecto en el grupo de exposición crónica; sin embargo, en el grupo de exposición crónica se observó una disminución pequeña en el efecto máximo, lo cual puede ser debido a que las ratas diabéticas expuestas de manera crónica a tolueno pueden estarse adaptando a la condición, aunque cualitativamente este grupo se veía con mayor deterioro físico que el grupo subagudo.

- En la comparación de los anillos de aorta sin endotelio se observó que en los grupos control no hubo diferencias estadísticamente significativas; mientras que cuando se compararon los grupos de ratas diabéticas se aprecia una disminución en el efecto del grupo diabético crónico, lo cual puede atribuirse al tiempo que llevan con la diabetes, como lo reporta Schulingkamp y colaboradores en 2005, mientras que el aumento de la tensión en los anillos de aorta del grupo de ratas con diabetes subaguda lo podríamos atribuir a una hiperreactividad causada por la estreptozotocina en el periodo de desarrollo de la diabetes. Cabe mencionar que el mismo efecto de la diabetes subaguda no se logra observar cuando las ratas diabéticas son expuestas a tolueno, por lo que se sugiere que cuando las ratas

diabéticas son expuestas a tolueno estos dos factores pueden generar una disminución en la concentración de receptores adrenérgicos, en comparación a cuando sólo hay diabetes en el grupo de exposición subaguda, aunque otra posible explicación puede ser que al estar expuestas las ratas a ambas condiciones se bloqueen algunos canales, como los canales de  $Ca^{+2}$ , generando una disminución de la contracción de los anillos de aorta. La tensión en los anillos de aorta de ratas que fueron expuestas a tolueno de manera subaguda y crónica tuvo diferencias significativas, teniendo una mayor tensión los anillos de aorta de ratas que fueron expuestas a tolueno de manera crónica, en donde se sugiere que esto podría ser debido a un aumento en la expresión de receptores adrenérgicos, aunque este efecto se ve disminuido cuando las ratas expuestas a tolueno son diabéticas, lo que nos indicaría que cuando están las dos condiciones presentes se activa algún mecanismo que genera la disminución de tensión de los anillos.

Es importante conocer la ubicación, funcionamiento y expresión de los diferentes subtipos de receptores adrenérgicos  $\alpha_1$ , ya que sabiendo esto podemos valorar cómo estos receptores se ven involucrados en el correcto funcionamiento de los diversos órganos y ver si estos se pueden ver alterados por alguna enfermedad o sustancia. A pesar de que existen diferentes subtipos de receptores adrenérgicos distribuidos a través del cuerpo, uno de los subtipos de receptores menos estudiados son los receptores adrenérgicos alfa  $\alpha_{1D}$ , estos receptores tienen una importante participación en la vasoconstricción de arterias como la aorta (Buckner et al., 1996; Qin et al., 2019). Por lo anterior, es importante conocer cómo dichos receptores se ven involucrados en los resultados de este proyecto. La participación de los receptores adrenérgicos se observó a través de la evaluación de la afinidad de los receptores  $\alpha_{1D}$  hacia el BMY 7378, que es un antagonista selectivo para este receptor. Se sacaron valores de afinidad

$pK_B$  (análisis alternativo al análisis de Schild para las pendientes diferentes de 1) para cada uno de los grupos de ratas a tres concentraciones diferentes de BMY 7378.

- Para la observación de la afinidad por parte del antagonista adrenérgico selectivo  $\alpha_{1D}$  se calcularon los valores de  $pK_B$ , en donde los resultados de todos los grupos fueron muy similares, lo que nos sugiere que el receptor adrenérgico  $\alpha_{1D}$  se encuentra presente de manera funcional en la aorta y que tanto en condiciones de diabetes, exposición a tolueno y diabetes con exposición a tolueno tanto de manera subaguda como crónica no existen diferencias en el funcionamiento del receptor adrenérgico, ni se está afectando la densidad de éste, coincidiendo con lo reportado por Rodríguez en 2013, donde mencionan que durante la diabetes subaguda no existe diferencia en la expresión de los receptores adrenérgicos y difiriendo con lo reportado por Castro en 2006, quien hace mención que sí existió un aumento en la densidad y expresión de receptores adrenérgicos  $\alpha_{1D}$  en ratas diabéticas (6 semanas con diabetes).

Como hemos revisado, algunos de los elementos presentes en el endotelio, como el óxido nítrico, la endotelina 1, la angiotensina II, entre otros (Rajendran et al., 2013) se pueden ver incrementados o disminuidos, en ambos casos llegando a generar un efecto sobre los diferentes tejidos en los que se encuentran. Como lo es el caso de la diabetes que llega a disminuir las concentraciones de óxido nítrico por el aumento de especies reactivas de oxígeno, generando un desbalance en la concentración de factores vasodilatadores, con esto provocando una mayor contracción a nivel vascular (Hadi & Suwaidi., 2007).

## 11 Conclusiones

La exposición a diabetes subaguda produce una mayor participación funcional de los receptores adrenérgicos  $\alpha 1$ .

La exposición crónica a tolueno genera un aumento en la respuesta vascular adrenérgica en los anillos de aorta en ratas.

La exposición tanto a la diabetes como al tolueno genera una disminución de la respuesta contráctil, que se observa aumentada cuando estos dos factores están presentes de manera individual.

El endotelio mantiene sus propiedades de vaso modulador cuando existe una exposición subaguda a los diferentes tratamientos y esto se ve modificado conforme aumenta el tiempo de exposición al tolueno y a la diabetes.

## 12 Perspectivas

Los resultados obtenidos en el presente proyecto abren la posibilidad de indagar más en otros campos que podrían estar siendo afectados por la diabetes o el tolueno, por lo que sería interesante determinar el funcionamiento y la expresión de los diferentes subtipos de receptores adrenérgicos a diferentes tiempos de presentación de la diabetes y diferentes duraciones de exposición a tolueno. De igual forma se podrían cuantificar las concentraciones de algunos elementos presentes en el endotelio cuando existe la exposición a tolueno.

## 13 Referencias

- Akinaga, J., García-Sáinz, J. A., & Pupo, A. S. (2019). Updates in the Function and Regulation of  $\alpha_1$ -Adrenoceptors. *British Journal of Pharmacology*. <https://doi.org/10.1111/bph.14617>
- American Diabetes Association. (2020). 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: *Standards of Medical Care in Diabetes—2020*. *Diabetes Care*, 43(Supplement 1), S14-S31. <https://doi.org/10.2337/dc20-S002>
- Arslan, Ş., Uzunhasan, I., Kocas, B. B., Cetinkal, G., Arslan, Ş., Kocas, C., Abaci, O., Yildiz, M., Celiker, C., & Turkoglu, C. (2018). Effect of chronic toluene exposure on heart rhythm parameters. *Pacing and clinical electrophysiology: PACE*, 41(7), 783–787. <https://doi.org/10.1111/pace.13381>
- Basto-Abreu, A. C., López-Olmedo, N., Rojas-Martínez, R., Aguilar-Salinas, C. A., De la Cruz-Góngora, V. V., Rivera-Dommarco, J., Shamah-Levy, T., Romero-Martínez, M., Barquera, S., Villalpando, S., & Barrientos-Gutiérrez, T. (2021). Prevalence of diabetes and glycemic control in Mexico: national results from 2018 and 2020. *Salud pública de Mexico*, 63(6, Nov-Dic), 725–733. <https://doi.org/10.21149/12842>
- Balster, R. L., Cruz, S. L., Howard, M. O., Dell, C. A., & Cottler, L. B. (2009). Classification of abused inhalants. *Addiction*, 104(6), 878-882. <https://doi.org/10.1111/j.1360-0443.2008.02494.x>
- Bale, A. S., Adams, T. L., Bushnell, P. J., Shafer, T. J., & Boyes, W. K. (2005). Role of NMDA, nicotinic, and GABA receptors in the steady-state visual-evoked potential in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 82(4), 635-645. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2005.11.003>
- Baskerville, J. R., Tichenor, G. A., & Rosen, P. B. (2001). Toluene induced hypokalaemia: case report and literature review. *Emergency*

*medicine journal* : *EMJ*, 18(6), 514–516.  
<https://doi.org/10.1136/emj.18.6.514>

- Baydala L. (2010). Inhalant abuse. *Paediatrics & child health*, 15(7), 443–454, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21886449>.
- Beckstead, M. J., Weiner, J. L., Eger, E. I., 2nd, Gong, D. H., & Mihic, S. J. (2000). Glycine and gamma-aminobutyric acid(A) receptor function is enhanced by inhaled drugs of abuse. *Molecular pharmacology*, 57(6), 1199–1205.
- Benjamin, E. J., Muntner, P., Alonso, A., Bittencourt, M. S., Callaway, C. W., Carson, A. P., Chamberlain, A. M., Chang, A. R., Cheng, S., Das, S. R., Delling, F. N., Djousse, L., Elkind, M. S. V., Ferguson, J. F., Fornage, M., Jordan, L. C., Khan, S. S., Kissela, B. M., Knutson, K. L., ... On behalf of the American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. (2019). Heart Disease and Stroke Statistics—2019 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*, 139(10). <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000659>
- Bencivenga, L., Liccardo, D., Napolitano, C., Visaggi, L., Rengo, G., & Leosco, D. (2019).  $\beta$ -Adrenergic Receptor Signaling and Heart Failure: From Bench to Bedside. *Heart failure clinics*, 15(3), 409–419. <https://doi.org/10.1016/j.hfc.2019.02.009>
- Bowen, S. E., Howard, M. O., & Garland, E. L. (2016). Inhalant Use Disorders in the United States. En *Neuropathology of Drug Addictions and Substance Misuse* (pp. 931-942). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800212-4.00085-6>
- Bracchi, M., Stuart, D., Castles, R., Khoo, S., Back, D., & Boffito, M. (2015). Increasing use of 'party drugs' in people living with HIV on antiretrovirals: a concern for patient safety. *AIDS (London, England)*, 29(13), 1585–1592. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000786>

- Buckner, S. A., Oheim, K. W., Morse, P. A., Knepper, S. M., & Hancock, A. A. (1996). Alpha 1-adrenoceptor-induced contractility in rat aorta is mediated by the alpha 1D subtype. *European journal of pharmacology*, 297(3), 241–248. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(95\)00755-5](https://doi.org/10.1016/0014-2999(95)00755-5)
- Callan, S. P., Apawu, A. K., Mathews, T. A., & Bowen, S. E. (2017). Toluene's effects on activity and extracellular dopamine in the mouse are altered by GABA<sub>A</sub> antagonism. *Neuroscience letters*, 647, 67–71. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.03.004>
- Carreón-Garcidueñas, M., Godínez-Hernández, D., Alvarado-Gómez, N., Ortega-Varela, L. F., Cervantes-Durán, C., & Gauthereau-Torres, M. Y. (2018). Participation of voltage-gated sodium and calcium channels in the acute cardiac effects of toluene. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 28(9), 670-677. <https://doi.org/10.1080/15376516.2018.1491664>
- Carter-Kent, C., Zein, N. N., & Feldstein, A. E. (2008). Cytokines in the Pathogenesis of Fatty Liver and Disease Progression to Steatohepatitis: Implications for Treatment. *The American Journal of Gastroenterology*, 103(4), 1036-1042. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2007.01709.x>
- Castro Moreno P. (2006) función vascular  $\alpha_{1D}$  adrenérgica durante la diabetes experimental, para grado de maestría, UMSNH.
- Ceja Fernandez, A., (2020) Efecto del tolueno en la respuesta vascular adrenérgica en ratas. Tesis para obtener el grado de Maestría en Ciencias de la Salud, UMSNH.
- Chan, J. C. N., Lim, L.-L., Wareham, N. J., Shaw, J. E., Orchard, T. J., Zhang, P., Lau, E. S. H., Eliasson, B., Kong, A. P. S., Ezzati, M., Aguilar-Salinas, C. A., McGill, M., Levitt, N. S., Ning, G., So, W.-Y., Adams, J., Bracco, P., Forouhi, N. G., Gregory, G. A., ... Gregg, E. W. (2020). The Lancet Commission on diabetes: Using data to transform

diabetes care and patient lives. *The Lancet*, 396(10267), 2019-2082.  
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32374-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32374-6)

- Crossin, R., Andrews, Z. B., Sims, N. A., Pang, T., Mathai, M., Gooi, J. H., Stefanidis, A., Oldfield, B. J., Lawrence, A. J., & Duncan, J. R. (2018). Adolescent Inhalant Abuse Results in Adrenal Dysfunction and a Hypermetabolic Phenotype with Persistent Growth Impairments. *Neuroendocrinology*, 107(4), 340-354.  
<https://doi.org/10.1159/000493686>
- Cruz, S. L., Mirshahi, T., Thomas, B., Balster, R. L., & Woodward, J. J. (1998). Effects of the abused solvent toluene on recombinant N-methyl-D-aspartate and non-N-methyl-D-aspartate receptors expressed in *Xenopus oocytes*. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 286(1), 334–340.
- Cruz, S. L. (2018). Inhalant misuse management. The experience in Mexico and a literature review. *Journal of Substance Use*, 23(5), 485-491. <https://doi.org/10.1080/14659891.2017.1405090>
- Cruz, S. L., & Bowen, S. E. (2021). The last two decades on preclinical and clinical research on inhalant effects. *Neurotoxicology and Teratology*, 87, 106999. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2021.106999>
- Cruz, S. L., & Domínguez, M. (2011) Misusing Volatile Substances for Their Hallucinatory Effects: A Qualitative Pilot Study With Mexican Teenagers and a Pharmacological Discussion of Their Hallucinations, *Substance Use & Misuse*, 46:sup1, 84-94, DOI: [10.3109/10826084.2011.580222](https://doi.org/10.3109/10826084.2011.580222)
- Camara-Lemarroy, C. R., Rodríguez-Gutiérrez, R., Monreal-Robles, R., & González-González, J. G. (2015). Acute toluene intoxication--clinical presentation, management and prognosis: a prospective observational study. *BMC emergency medicine*, 15, 19.  
<https://doi.org/10.1186/s12873-015-0039-0>

- Cruz, S. L., Orta-Salazar, G., Gauthereau, M. Y., Millan-Perez Peña, L., & Salinas-Stefanón, E. M. (2003). Inhibition of cardiac sodium currents by toluene exposure: Toluene inhibits Na<sup>+</sup> cardiac channels. *British Journal of Pharmacology*, 140(4), 653-660. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705481>
- Cruz, S. L., Rivera-García, M. T., & Woodward, J. J. (2014). Review of Toluene Actions: Clinical Evidence, Animal Studies, and Molecular Targets. *Journal of Drug and Alcohol Research*, 3, 1-8. <https://doi.org/10.4303/jdar/235840>
- Cruz, S. L., Torres-Flores, M., & Galván, E. J. (2019). Repeated toluene exposure alters the synaptic transmission of layer 5 medial prefrontal cortex. *Neurotoxicology and Teratology*, 73, 9-14. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2019.02.002>
- Cruz-Valdéz, J. (s. f.). *Alteraciones metabólicas en la inhalación de solventes. Informe de ocho casos*. 8.
- Decharat S. (2014). Hippuric Acid levels in paint workers at steel furniture manufacturers in Thailand. *Safety and health at work*, 5(4), 227–233. <https://doi.org/10.1016/j.shaw.2014.07.006>
- Deeds, M. C., Anderson, J. M., Armstrong, A. S., Gastineau, D. A., Hiddinga, H. J., Jahangir, A., Eberhardt, N. L., & Kudva, Y. C. (2011). Single dose streptozotocin-induced diabetes: Considerations for study design in islet transplantation models. *Laboratory Animals*, 45(3), 131-140. <https://doi.org/10.1258/la.2010.010090>
- Darke, S., Zahra, E., Duflou, J., Peacock, A., Farrell, M., & Lappin, J. (2023). Characteristics and circumstances of volatile solvent misuse-related death in Australia, 2000-2021. *Clinical toxicology (Philadelphia, Pa.)*, 61(4), 260–265. <https://doi.org/10.1080/15563650.2023.2184243>
- Del Re, A. M., & Woodward, J. J. (2005). Inhibition of gap junction currents by the abused solvent toluene. *Drug and Alcohol Dependence*, 78(2), 221-224. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2004.10.005>

- Demir, S., Nawroth, P. P., Herzig, S., & Ekim Üstünel, B. (2021). Emerging Targets in Type 2 Diabetes and Diabetic Complications. *Advanced science (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Germany)*, 8(18), e2100275. <https://doi.org/10.1002/adv.20210027>
- Dick, A. L. W., Simpson, A., Qama, A., Andrews, Z., Lawrence, A. J., & Duncan, J. R. (2015). Chronic intermittent toluene inhalation in adolescent rats results in metabolic dysfunction with altered glucose homeostasis: Inhalant abuse induces metabolic dysfunction. *British Journal of Pharmacology*, 172(21), 5174-5187. <https://doi.org/10.1111/bph.13284>
- Dick, A. L. W., Pooters, T., Gibbs, S., Giles, E., Qama, A., Lawrence, A. J., & Duncan, J. R. (2015). NMDA receptor binding is reduced within mesocorticolimbic regions following chronic inhalation of toluene in adolescent rats. *Brain Research*, 1624, 239-252. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.07.037>
- Einarson, T. R., Acs, A., Ludwig, C., & Panton, U. H. (2018). Prevalence of cardiovascular disease in type 2 diabetes: a systematic literature review of scientific evidence from across the world in 2007-2017. *Cardiovascular diabetology*, 17(1), 83. <https://doi.org/10.1186/s12933-018-0728-6>
- Filley C. M. (2013). Toluene abuse and white matter: a model of toxic leukoencephalopathy. *The Psychiatric clinics of North America*, 36(2), 293–302. <https://doi.org/10.1016/j.psc.2013.02.008>
- Furchgott, R. F. (1972). The classification of adrenoceptors (adrenergic receptors). An evaluation from the standpoint of receptor theory, Berlin, Springer-Verlag.
- Furman B. L. (2015). Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Current protocols in pharmacology*, 70, 5.47.1–5.47.20. <https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0547s70>

- Finch, A. M., & Graham, R. M. (2006). The  $\alpha_{1D}$ -Adrenergic Receptor: Cinderella or Ugly Stepsister. *Molecular Pharmacology*, 69(1), 1-4. <https://doi.org/10.1124/mol.105.020230>
- Flood, J.F., Mooradian, A.D., and Morley, J.E. 1990. Characteristics of learning and memory in streptozotocin-induced diabetic mice. *Diabetes* 39:1391-1398.
- Gauthereau, M. Y., Salinas-Stefanon, E. M., & Cruz, S. L. (2005). A mutation in the local anaesthetic binding site abolishes toluene effects in sodium channels. *European Journal of Pharmacology*, 528(1-3), 17-26. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2005.10.069>
- Gigengack R. (2014). The chemo and the mona: inhalants, devotion and street youth in Mexico City. *The International journal on drug policy*, 25(1), 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.drugpo.2013.08.001>
- Gigengack, R. (2016). Inhalant Drug Use and Street Youth. En *Neuropathology of Drug Addictions and Substance Misuse* (pp. 1075-1084). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800212-4.00099-6>
- Giorgetti, R., Tagliabracci, A., Schifano, F., Zaami, S., Marinelli, E., & Busardò, F. P. (2017). When "Chems" Meet Sex: A Rising Phenomenon Called "ChemSex". *Current neuropharmacology*, 15(5), 762–770. <https://doi.org/10.2174/1570159X15666161117151148>
- Graham, R. M., Perez, D. M., Hwa, J., & Piascik, M. T. (1996).  $\alpha_1$ -Adrenergic Receptor Subtypes: Molecular Structure, Function, and Signaling. *Circulation Research*, 78(5), 737-749. <https://doi.org/10.1161/01.RES.78.5.737>
- Hadi, H. A., & Suwaidi, J. A. (2007). Endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Vascular health and risk management*, 3(6), 853–876.
- Hague, C., Chen, Z., Pupo, A. S., Schulte, N. A., Toews, M. L., & Minneman, K. P. (2004). The N terminus of the human alpha1D-adrenergic receptor prevents cell surface expression. *The Journal of*

*pharmacology and experimental therapeutics*, 309(1), 388–397.  
<https://doi.org/10.1124/jpet.103.060509>

- Hink, U., Li, H., Mollnau, H., Oelze, M., Matheis, E., Hartmann, M., Skatchkov, M., Thaiss, F., Stahl, R. A., Warnholtz, A., Meinertz, T., Griendling, K., Harrison, D. G., Forstermann, U., & Munzel, T. (2001). Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Circulation research*, 88(2), E14–E22. <https://doi.org/10.1161/01.res.88.2.e14>
- Hernández Montoya D, Flores AS, Esparza Aguilar M, Benjet C, Llanes Díaz N, Variation in incidence of type 2 diabetes mellitus: Time series of Mexican adolescents, *Annals of Epidemiology* (2018), doi: <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2018.11.006>.
- Hoffman R. P. (2014). Vascular endothelial dysfunction and nutritional compounds in early type 1 diabetes. *Current diabetes reviews*, 10(3), 201–207. <https://doi.org/10.2174/1573399810666140613124326>
- Isaksen, J. L., Graff, C., Ellervik, C., Jensen, J. S., Rossing, P., Kanters, J. K., & Jensen, M. T. (2018). Cardiac repolarization and depolarization in people with Type 1 diabetes with normal ejection fraction and without known heart disease: A case-control study. *Diabetic Medicine*, 35(10), 1337-1344. <https://doi.org/10.1111/dme.13689>
- Jayanth, S. H., Hugar, B. S., Praveen, S., & Girish Chandra, Y. P. (2017). Glue sniffing. *The Medico-legal journal*, 85(1), 38–42. <https://doi.org/10.1177/0025817216671106>
- Janezic, E.M., Lauer, S.M.L., Williams, R.G. *et al.* N-glycosylation of  $\alpha_{1D}$ -adrenergic receptor N-terminal domain is required for correct trafficking, function, and biogenesis. *Sci Rep* 10, 7209 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64102-4>
- Jensen, B. C., O'Connell, T. D., & Simpson, P. C. (2011). Alpha-1-adrenergic receptors: Targets for agonist drugs to treat heart failure.

*Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 51(4), 518-528.  
<https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2010.11.014>

- Jensen, B. C., O'Connell, T. D., & Simpson, P. C. (2014). Alpha-1–Adrenergic Receptors in Heart Failure: The Adaptive Arm of the Cardiac Response to Chronic Catecholamine Stimulation. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 63(4), 291-301.  
<https://doi.org/10.1097/FJC.0000000000000032>
- Kalayasiri, R., & Maes, M. (2016). Addiction to, Neurobiology of, and Genetics of Inhalants. En *Neuropathology of Drug Addictions and Substance Misuse* (pp. 958-963). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800212-4.00087-X>
- Karagözler, A. A., Mehmet, N., & Batçioğlu, K. (2002). EFFECTS OF LONG-TERM SOLVENT EXPOSURE ON BLOOD CYTOKINE LEVELS AND ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITIES IN HOUSE PAINTERS. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 65(17), 1237-1246. <https://doi.org/10.1080/152873902760125723>
- Khaddaj Mallat, R., Mathew John, C., Kendrick, D. J., & Braun, A. P. (2017). The vascular endothelium: A regulator of arterial tone and interface for the immune system. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, 54(7-8), 458–470.  
<https://doi.org/10.1080/10408363.2017.1394267>
- Kramp, K. H., Salih, M., Thomeer, E., & Gardien, M. (2018). Cardiac arrest by inhalation of deodorant spray. *BMJ case reports*, 2018, bcr2018224345. <https://doi.org/10.1136/bcr-2018-224345>
- Le, A., Yockey, A., & Palamar, J. J. (2020). Use of "Poppers" among Adults in the United States, 2015-2017. *Journal of psychoactive drugs*, 52(5), 433–439. <https://doi.org/10.1080/02791072.2020.1791373>
- Lee, J. H., Bahk, J. H., Park, S. H., & Huh, J. (2011). The diabetes-induced functional and distributional changes of the alpha 1-adrenoceptor of the abdominal aorta and distal mesenteric artery from

streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean journal of anesthesiology*, 60(4), 272–281.

<https://doi.org/10.4097/kjae.2011.60.4.272>

- León J.E (2008) Modificación de los receptores vasculares alfa-1 en ratas embarazadas diabéticas. *lpn.mx*. [https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/4312/Le%  
c3%b3n%20Urias%2c%20Jos%c3%a9%20Eduardo%20ESM\\_Tesis.pdf?sequence=4&isAllowed=y](https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/4312/Le%c3%b3n%20Urias%2c%20Jos%c3%a9%20Eduardo%20ESM_Tesis.pdf?sequence=4&isAllowed=y)
- Lim, S. K., Shin, H. S., Yoon, K. S., Kwack, S. J., Um, Y. M., Hyeon, J. H., Kwak, H. M., Kim, J. Y., Kim, T. H., Kim, Y. J., Roh, T. H., Lim, D. S., Shin, M. K., Choi, S. M., Kim, H. S., & Lee, B.-M. (2014). Risk Assessment of Volatile Organic Compounds Benzene, Toluene, Ethylbenzene, and Xylene (BTEX) in Consumer Products. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 77(22-24), 1502-1521. <https://doi.org/10.1080/15287394.2014.955905>
- MacIver, M. B. (2009). Abused Inhalants Enhance GABA-Mediated Synaptic Inhibition. *Neuropsychopharmacology*, 34(10), 2296-2304. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.57>
- Michiels C. (2003). Endothelial cell functions. *Journal of cellular physiology*, 196(3), 430–443. <https://doi.org/10.1002/jcp.10333>
- Monteiro, C., Franco, J. M., Proença, P., Castañera, A., Claro, A., Vieira, D. N., & Corte-Real, F. (2014). Qualitative and quantitative analysis of a group of volatile organic compounds in biological samples by HS-GC/FID: application in practical cases. *Forensic science international*, 243, 137–143. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2014.07.016>
- Nakajima, T., Wang, R. S., Elovaara, E., Gonzalez, F. J., Gelboin, H. V., Raunio, H., Pelkonen, O., Vainio, H., & Aoyama, T. (1997). Toluene metabolism by cDNA-expressed human hepatic cytochrome

P450. *Biochemical pharmacology*, 53(3), 271–277.  
[https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(96\)00652-1](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(96)00652-1)

- Qin, X., Hou, X., Zhang, K., & Li, Q. (2019).  $\alpha_{1D}$ -adrenoceptor involves the relaxation effect of farrerol in rat aortic vascular smooth muscle cells. *European journal of pharmacology*, 853, 169–183. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.02.012>
- Peralta, D. P., & Chang, A. Y. (2012). Toluene inducing acute respiratory failure in a spray paint sniffer. *The American journal of case reports*, 13, 92–95. <https://doi.org/10.12659/AJCR.882962>
- Prayulsatien W. (2013). Sudden death from toluene intoxication: a case report and review of literature. *Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmaihet thangphaet*, 96(9), 1242–1244.
- Rajendran, P., Rengarajan, T., Thangavel, J., Nishigaki, Y., Sakthisekaran, D., Sethi, G., & Nishigaki, I. (2013). The vascular endothelium and human diseases. *International journal of biological sciences*, 9(10), 1057–1069. <https://doi.org/10.7150/ijbs.7502>
- Rodriguez, J. E.-, Resendiz-Albor, A. A., Arciniega-Martinez, I. M., Campos-Rodriguez, R., Hong, E., Huang, F., & Villafaña, S. (2013). Effect of Early Diabetes on the Expression of Alpha-1 Adrenergic Receptors in Aorta and Carotid Arteries of Wistar Kyoto and Spontaneously Hypertensive Rats. *Clinical and Experimental Hypertension*, 35(6), 389-395. <https://doi.org/10.3109/10641963.2012.739233>
- Rodríguez, J. E., Ruiz-Hernández, A., Hernández-DíazCoudes, A., Huang, F., Hong, E., & Villafaña, S. (2020). Chronic diabetes and hypertension impair the in vivo functional response to phenylephrine independent of  $\alpha_1$ -adrenoceptor expression. *European Journal of Pharmacology*, 883, 173283. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173283>

- Rojas-Martínez, R., Basto-Abreu, A., Aguilar-Salinas, C. A., Zárate-Rojas, E., Villalpando, S., & Barrientos-Gutiérrez, T. (2018). Prevalencia de diabetes por diagnóstico médico previo en México. *Salud Pública de México*, 60(3, may-jun), 224. <https://doi.org/10.21149/8566>
- Rösen, P., Du, X., & Sui, G. Z. (2001). Molecular mechanisms of endothelial dysfunction in the diabetic heart. *Advances in experimental medicine and biology*, 498, 75–86. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1321-6\\_11](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1321-6_11)
- Schulingkamp, R. J., Aloyo, V., Tallarida, R. J., & Raffa, R. B. (2005). Changes in aorta alpha1-adrenoceptor number and affinity during one year of streptozotocin-induced diabetes in rats. *Pharmacology*, 74(1), 23–30. <https://doi.org/10.1159/000083211>
- Strosberg, A. D. (1993). Structure, function, and regulation of adrenergic receptors. *Protein Science*, 2(8), 1198-1209. <https://doi.org/10.1002/pro.5560020802>
- Taş, U., Ekici, F., Koç, F., Söğüt, E., Ayan, M., Kuloğlu, T., Arici, A., & Özyurt, B. (2013). Acute cardiotoxic effects of high dose toluene: an experimental study. *Anadolu kardiyoloji dergisi : AKD = the Anatolian journal of cardiology*, 13(1), 3–8. <https://doi.org/10.5152/akd.2013.001>
- Tillar, R., Shafer, T. J., & Woodward, J. J. (2002). Toluene inhibits voltage-sensitive calcium channels expressed in pheochromocytoma cells. *Neurochemistry international*, 41(6), 391–397. [https://doi.org/10.1016/s0197-0186\(02\)00048-7](https://doi.org/10.1016/s0197-0186(02)00048-7)
- Thiesen, F. V., Noto, A. R., & Barros, H. M. (2007). Laboratory diagnosis of toluene-based inhalants abuse. *Clinical toxicology (Philadelphia, Pa.)*, 45(5), 557–562. <https://doi.org/10.1080/15563650701365891>
- Tulsidas, H. (2010). Glue Sniffing: A Review. *Proceedings of Singapore Healthcare*, 19(4), 312-318. <https://doi.org/10.1177/201010581001900406>

- Ugusman, A., Kumar, J., & Aminuddin, A. (2021). Endothelial function and dysfunction: Impact of sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors. *Pharmacology & therapeutics*, 224, 107832. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2021.107832>
- Vega, Leticia, Gutiérrez, Rafael, Rodríguez, Eva Ma., & Fuentes de Iturbe, Patricia. (2015). El consumo de inhalables en las prácticas de socialidad de dos grupos de estudiantes de secundarias públicas. *Salud mental*, 38(6), 417-425. <https://doi.org/10.17711/sm.0185-3325.2015.056>
- Villatoro, J. A., Cruz, S. L., Ortiz, A., & Medina-Mora, M. E. (2011). Volatile Substance Misuse in Mexico: Correlates and Trends. *Substance Use & Misuse*, 46(sup1), 40-45. <https://doi.org/10.3109/10826084.2011.580205>
- Vanhoutte, P. M., & Gao, Y. (2013). Beta blockers, nitric oxide, and cardiovascular disease. *Current opinion in pharmacology*, 13(2), 265-273.
- Vanhoutte, P. M., Shimokawa, H., Feletou, M., & Tang, E. H. (2017). Endothelial dysfunction and vascular disease - a 30th anniversary update. *Acta physiologica (Oxford, England)*, 219(1), 22–96. <https://doi.org/10.1111/apha.12646>
- Vasiliadis, I., Kolovou, G., Mavrogeni, S., Nair, D. R., & Mikhailidis, D. P. (2014). Sudden cardiac death and diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 28(4), 573-579. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2014.02.003>
- Wachter, N. H., Gómez-Díaz, R. A., Ascencio-Montiel, I. de J., Rascón-Pacheco, R. A., Aguilar-Salinas, C. A., & Borja-Aburto, V. H. (2020). Type 1 diabetes incidence in children and adolescents in Mexico: Data from a nation-wide institutional register during 2000–2018. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 159, 107949. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2019.107949>

- Weston, P. J. (2012). The dead in bed syndrome revisited: A review of the evidence. *Diabetes Management*, 2(3), 233-241. <https://doi.org/10.2217/dmt.12.2>
- Won, Y. L., Ko, Y., Heo, K.-H., Ko, K. S., Lee, M.-Y., & Kim, K.-W. (2011). The Effects of Long-Term, Low-Level Exposure to Monocyclic Aromatic Hydrocarbons on Worker's Insulin Resistance. *Safety and Health at Work*, 2(4), 365-374. <https://doi.org/10.5491/SHAW.2011.2.4.365>
- Xiang, Y., Li, L., Ma, X., Li, S., Xue, Y., Yan, P., Chen, M., & Wu, J. (2021). Recreational Nitrous Oxide Abuse: Prevalence, Neurotoxicity, and Treatment. *Neurotoxicity Research*, 39(3), 975-985. <https://doi.org/10.1007/s12640-021-00352-y>
- Yono, M., Foster, H. E., Jr, Shin, D., Takahashi, W., Pouresmail, M., & Latifpour, J. (2004). Doxazosin treatment causes differential alterations of alpha 1-adrenoceptor subtypes in the rat kidney, heart and aorta. *Life sciences*, 75(21), 2605–2614. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2004.08.001>