



# 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



---

“Efecto de la exposición a tolueno sobre la reactividad vascular  
adrenérgica en ratas”

**Tesis**

Para obtener el grado de: Maestra en  
Ciencias de la Salud

---

**Presenta:**

Q.F.B. Annel Ceja Fernández

Directora de tesis:

D. en C. Marcia Yvette Gauthereau Torres

Co-Director de Tesis:

D. en C. Daniel Godínez Hernández

Morelia, Michoacán, Septiembre 2022



La Maestría en Ciencias de la Salud de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

Durante el desarrollo de esta investigación se contó con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, al cual se le agradece por destinar la beca para la realización de estudios de posgrado durante el periodo 2020-2022

No. De Becario: 765600

CVU: 1042700

Este trabajo de investigación fue desarrollado durante el periodo 2020-2022 en:

Universidad Michoacana de San Nicolás 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

Laboratorio de Farmacología

A cargo de D. en C. Daniel Godínez Hernández

Morelia, Michoacán, México.



*En memoria de Rosy.  
Gracias por tantos años de amor y aprendizaje;  
y por seguir siendo un ejemplo a seguir.*



## AGRADECIMIENTOS

A mis asesores, la D. en C. Marcia Yvette Gauthereau Torres y el D. en C. Daniel Godínez Hernández, por compartir sus conocimientos y la paciencia que tuvieron conmigo. Por confiar en mi para realizar este trabajo, que me enseñó tanto, y que hice con mucho cariño.

A mi madre, Virginia Fernández; y mi padre, Ladislao Ceja, porque a pesar de todo siempre me han brindado su apoyo y amor; por ofrecerme las herramientas para salir adelante y siempre velar por mi bienestar.

A mis hermanas, Andrea y Alejandra; y mi hermano, Ladislao, por ser pieza fundamental en mi camino, por enseñarme tanto y ser mi ejemplo a seguir, por su apoyo y consejos, y por todas las pláticas y el amor que sólo entre hermanas y hermano podemos entender. Ustedes son mi motivación para seguir adelante.

A mi Tzintzicha, Mizraim, por aceptarme y escucharme hablar de un tema que no entendías, pero siempre mi más atento oyente; por presumir y celebrar cada uno de mis logros; por siempre estar a mi lado en los momentos buenos y en los malos; por brindarme consuelo y darme ánimos siempre; por toda la paciencia y amor que me das día a día, y que necesité en este proceso.

A mis sinodales, la D. en C. Virginia Angelica Robinson Fuentes, el D. en C. José Miguel Cervantes Alfaro y el D. en C. Maximiliano Ibarra Barajas, por todos sus consejos y comentarios, que tanto me funcionaron, a través de este trabajo; por aclarar mis dudas y siempre estar atentos de su servidora.

A mi familia, por el amor y la sabiduría que comparten a manos llenas; por la preocupación, los buenos deseos y compartir la alegría de cada meta cumplida.



A Javier Castañeda, que siempre tuvo tiempo para resolver mis dudas y apoyar todo mi proceso durante esta maestría; por recordarme que no puedo controlar todo y que lo único que puedo hacer es: respirar y seguir adelante; por escucharme en mis momentos de difíciles y aportarme tanto para la vida.

A mis amigas y amigos, por estar siempre al pendiente, por motivarme a seguir adelante y no dejarme rendir; y por todo el amor que me dan.



## ÍNDICE GENERAL

|   |             |
|---|-------------|
| <b>ÍNDICE GENERAL</b> .....                               | <b>V</b>    |
| <b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....                            | <b>VII</b>  |
| <b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....                             | <b>VIII</b> |
| <b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....                        | <b>IX</b>   |
| <b>RESUMEN</b> .....                                      | <b>XI</b>   |
| <b>ABSTRACT</b> .....                                     | <b>XII</b>  |
| <b>I MARCO TEÓRICO</b> .....                              | <b>1</b>    |
| 1.1 INHALABLES .....                                      | 1           |
| 1.1.1 <i>Abuso de inhalables</i> .....                    | 1           |
| 1.2 CLASIFICACIÓN DE INHALABLES .....                     | 3           |
| 1.3 DATOS EPIDEMIOLÓGICOS DEL CONSUMO DE INHALABLES ..... | 5           |
| 1.4 TOLUENO.....  | 8           |
| 1.4.1 <i>Propiedades fisicoquímicas</i> .....             | 8           |
| 1.4.2 <i>Farmacocinética</i> .....                        | 9           |
| 1.4.3 <i>Efectos agudos y crónicos</i> .....              | 11          |
| 1.4.3.1 Efectos agudos.....                               | 11          |
| 1.4.3.2 Efectos crónicos.....                             | 12          |
| 1.4.4 <i>Mecanismo de acción</i> .....                    | 14          |
| 1.4.5 <i>Muerte súbita por inhalación</i> .....           | 15          |
| 1.5 RECEPTORES .....                                      | 17          |
| 1.5.1 <i>Receptores adrenérgicos</i> .....                | 17          |
| 1.5.1.1 Receptores $\alpha$ - adrenérgicos .....          | 20          |
| 1.5.1.2 Receptores $\beta$ - adrenérgicos .....           | 21          |
| <b>II JUSTIFICACIÓN</b> .....                             | <b>22</b>   |
| <b>III HIPÓTESIS</b> .....                                | <b>23</b>   |
| <b>IV OBJETIVOS</b> .....                                 | <b>23</b>   |
| 4.1 OBJETIVO GENERAL.....                                 | 23          |
| 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....                           | 23          |



|             |  |           |
|-------------|--|-----------|
| <b>V</b>    | <b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>                                       | <b>23</b> |
| 5.1         | OBJETO DE ESTUDIO .....  | 23        |
| 5.1.1       | <i>Animales.....</i>   | 23        |
| 5.2         | ASPECTOS ÉTICOS .....  | 23        |
| 5.3         | GRUPOS EXPERIMENTALES.....   | 24        |
| 5.4         | EXPOSICIÓN A DISOLVENTES.....  | 24        |
| 5.5         | CONTRACCIÓN DE AORTA AISLADA .....                                     | 25        |
| 5.5.1       | <i>Curva concentración-respuesta a fenilefrina.....</i>                | 27        |
| 5.5.2       | <i>Curva concentración-respuesta a adrenalina.....</i>                 | 27        |
| 5.5.3       | <i>Curva concentración-respuesta a isoproterenol.....</i>              | 27        |
| 5.6         | PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....  | 28        |
| 5.6.1       | <i>Exposición a disolventes .....</i>                                  | 28        |
| 5.6.2       | <i>Contracción de aorta .....</i>                                      | 28        |
| <b>VI</b>   | <b>RESULTADOS.....</b>   | <b>29</b> |
| 6.1         | CURVAS CONCENTRACIÓN-RESPUESTA A LA FENILEFRINA.....                   | 29        |
| 6.2         | CURVAS CONCENTRACIÓN-RESPUESTA A LA ADRENALINA .....                   | 31        |
| 6.3         | CURVAS CONCENTRACIÓN-RESPUESTA AL ISOPROTERENOL .....                  | 32        |
| 6.4         | ANÁLISIS DE LOS EFECTOS MÁXIMOS .....                                  | 34        |
| 6.4.1       | <i>Fenilefrina.....</i>  | 34        |
| 6.4.2       | <i>Adrenalina.....</i>   | 34        |
| 6.4.3       | <i>Isoproterenol.....</i>  | 35        |
| 6.5         | ANÁLISIS DE LAS CONCENTRACIONES EFECTIVAS 50 (CE <sub>50</sub> ) ..... | 35        |
| 6.5.1       | <i>Fenilefrina.....</i>  | 35        |
| 6.5.2       | <i>Adrenalina.....</i>   | 36        |
| 6.5.3       | <i>Isoproterenol.....</i>  | 36        |
| <b>VII</b>  | <b>DISCUSIÓN.....</b>  | <b>37</b> |
| <b>VIII</b> | <b>CONCLUSIÓN .....</b>  | <b>48</b> |
| <b>IX</b>   | <b>REFERENCIAS .....</b>   | <b>49</b> |
| <b>X</b>    | <b>REFERENCIAS AUDIOVISUALES .....</b>                                 | <b>56</b> |



## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1.</b> Clasificación de hidrocarburos.....  | 1  |
| <b>Figura 2.</b> Consumidores de drogas en el año 2017.....   | 5  |
| <b>Figura 3.</b> Prevalencia de consumo de sustancias.....  | 5  |
| <b>Figura 4.</b> Principales países consumidores de inhalables.....   | 6  |
| <b>Figura 5.</b> Consumo de drogas en el último año en la población de 12 a 65 años.....  | 7  |
| <b>Figura 6.</b> Consumo de drogas en los últimos 12 meses, en población de 12 a 65 años. ....  | 7  |
| <b>Figura 7.</b> Metabolismo del tolueno en humanos y ratas.....  | 10 |
| <b>Figura 8.</b> Signos y síntomas del mal uso de los inhalables y estudios de laboratorio .....  | 13 |
| <b>Figura 9.</b> Estructura de un cristal de Kobilka de un receptor $\beta$ -adrenérgico activado .....   | 17 |
| <b>Figura 10.</b> Receptores acoplados a proteína G .....   | 19 |
| <b>Figura 11.</b> Ecuación de Nelson.....   | 24 |
| <b>Figura 12.</b> Cámara de exposición.....   | 25 |
| <b>Figura 13. a)</b> Aorta aislada de rata y <b>b)</b> anillos arteriales.....  | 26 |
| <b>Figura 14. a)</b> Equipo de órgano aislado y <b>b)</b> cámaras para tejido aislado.....  | 26 |
| <b>Figura 15.</b> Curvas concentración-respuesta a fenilefrina en aortas preestimuladas con fenilefrina ( $1 \times 10^{-7}$ M) de animales control y animales expuestos a tolueno de manera subaguda, en ausencia y presencia del endotelio.....   | 30 |
| <b>Figura 16.</b> Curvas concentración-respuesta a adrenalina en aortas preestimuladas con fenilefrina ( $1 \times 10^{-7}$ M) de animales control y animales expuestos a tolueno de manera subaguda, en ausencia y presencia del endotelio.....    | 31 |
| <b>Figura 17.</b> Curvas concentración-respuesta al isoproterenol en aortas preestimuladas con adrenalina ( $1 \times 10^{-7}$ M) de animales control y animales expuestos a tolueno de manera subaguda, en ausencia y presencia del endotelio..... | 33 |



## ÍNDICE DE TABLAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabla 1.</b> Principales inhalables que pueden ser utilizados como drogas de abuso y su composición principal.....                         | 2  |
| <b>Tabla 2.</b> Propiedades fisicoquímicas del tolueno. ....  | 9  |
| <b>Tabla 3.</b> Efectos adversos de los inhalables.....   | 13 |
| <b>Tabla 4.</b> Receptores adrenérgicos en sistema cardiovascular, localización y función. Tomada y modificada de Westfall et al., 2013. .... | 19 |
| <b>Tabla 5.</b> Efectos máximos en respuesta a la fenilefrina.....  | 34 |
| <b>Tabla 6.</b> Efectos máximos en respuesta a la adrenalina.....   | 34 |
| <b>Tabla 7.</b> Efectos máximos en respuesta a isoproterenol.....   | 35 |
| <b>Tabla 8.</b> CE <sub>50</sub> expresadas como pD <sub>2</sub> , en respuesta a la fenilefrina. ....  | 35 |
| <b>Tabla 9.</b> CE <sub>50</sub> expresadas como pD <sub>2</sub> , en respuesta a la adrenalina. ....   | 36 |



### LISTA DE ABREVIATURAS

|                           |  |
|---------------------------|--|
| <b>5-HT</b>               | Serotonina   |
| <b>5-HT<sub>3</sub>-R</b> | Receptores de serotonina tipo 3                                    |
| <b>α-AR</b>               | Receptores adrenérgicos alfa                                       |
| <b>β-AR</b>               | Receptores adrenérgicos beta                                       |
| <b>μM</b>                 | Micromolar   |
| <b>AC</b>                 | Adenilato ciclasa  |
| <b>ADRE</b>               | Adrenalina   |
| <b>AMPA</b>               | Receptores a ácido α-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico |
| <b>Ang II</b>             | Angiotensina II  |
| <b>AR</b>                 | Receptores adrenérgicos  |
| <b>bpm</b>                | Latidos por minuto   |
| <b>BTEX</b>               | Benceno-tolueno-etilbenceno-xileno                                 |
| <b>Ca<sup>+2</sup></b>    | Calcio   |
| <b>cAMP</b>               | 3´-5´ adenosina monofosfato cíclico                                |
| <b>CE<sub>50</sub></b>    | Concentración efectiva 50  |
| <b>CK-MB</b>              | Creatina cinasa MB   |
| <b>CO<sub>2</sub></b>     | Dióxido de Carbono   |
| <b>CYP</b>                | Citocromo P-450  |
| <b>DA</b>                 | Dopamina   |
| <b>DAG</b>                | 1,2-diacilglicerol   |
| <b>ECG</b>                | Electrocardiograma   |
| <b>E<sub>máx</sub></b>    | Efecto máximo  |
| <b>ENCODAT</b>            | Encuesta Nacional de Consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco           |
| <b>eNOS</b>               | Óxido nítrico sintasa endotelial                                   |
| <b>ERK1/2</b>             | Cinasas reguladas por señales extracelulares                       |
| <b>GABA<sub>A</sub></b>   | Receptores a ácido γ-aminobutírico tipo A                          |
| <b>GDP</b>                | Guanosín difosfato   |
| <b>GDS</b>                | Global Drug Survey (Encuesta Global del Consumo de Drogas)         |
| <b>G<sub>i</sub></b>      | Proteína G inhibitoria   |
| <b>G<sub>s</sub></b>      | Proteína G estimuladora  |
| <b>GTP</b>                | Guanosín trifosfato  |
| <b>Gly-R</b>              | Receptores de glicina  |
| <b>GPCR</b>               | Receptores acoplados a proteína G                                  |
| <b>IP<sub>3</sub></b>     | Inositol 1,4,5-trifosfato  |
| <b>KCl</b>                | Cloruro de potasio   |
| <b>MBS</b>                | Solución salina de Barth modificada                                |
| <b>mm Hg</b>              | Milímetros de mercurio   |
| <b>mM</b>                 | Milimolar  |
| <b>ms</b>                 | Milisegundo  |
| <b>Na<sup>+</sup></b>     | Sodio  |
| <b>NA</b>                 | Noradrenalina  |
| <b>nAChRs</b>             | Receptores colinérgicos nicotínicos                                |



|                            |   |
|----------------------------|---|
| <b>Na<sub>v</sub>1.5</b>   | Canales de sodio cardiacos humanos                  |
| <b>NMDA</b>                | <i>N</i> -metil-D-aspartato                         |
| <b>NO</b>                  | Óxido nitrico                                       |
| <b>PKA</b>                 | Proteína cinasa A                                   |
| <b>PKC</b>                 | Proteína cinasa C                                   |
| <b>ppm</b>                 | Partes por millón                                   |
| <b>PTZ</b>                 | Pentilentetrazol                                    |
| <b>s</b>                   | Segundo   |
| <b>SNC</b>                 | Sistema nervioso central                            |
| <b>TCE</b>                 | 1,1,1-tricloroetano                                 |
| <b>TCY</b>                 | Tricloroetileno                                     |
| <b>TM</b>                  | Transmembrana                                       |
| <b>TnT</b>                 | Troponina T   |
| <b>Trop T<sub>hs</sub></b> | Troponina T altamente sensible                      |
| <b>UNODC</b>               | Oficina de Naciones Unidas contra la Droga y Delito |



## RESUMEN

Los inhalables son drogas de abuso que alteran el estado de conciencia después de la inhalación, dentro de este grupo el más representativo es el tolueno, ya que es el componente principal de muchos productos y el más estudiado en términos conductuales y mecanismos de acción. Se sabe que la inhalación de disolventes puede provocar la aparición de arritmias cardíacas y pueden producir un fenómeno denominado “muerte súbita por inhalación”, que hace referencia a los pacientes que tuvieron un colapso cardiovascular durante, o después, de la exposición a las sustancias volátiles. La exposición a tolueno modifica la función y la expresión de los canales de sodio y calcio dependientes de voltaje. Se sabe que también ocasiona una respuesta de vasoconstricción, que es atribuida a una probable participación de los receptores adrenérgicos, y esto podría contribuir a la presentación de arritmias cardíacas, que podrían ser ocasionadas por la sensibilización adrenérgica a las catecolaminas. El objetivo de nuestro estudio es evaluar el efecto de la exposición subaguda a tolueno sobre la respuesta vascular adrenérgica alfa 1D y beta en aorta de ratas. Se emplearon dos grupos de ratas Wistar macho, el grupo 1 se expuso a una concentración de tolueno de 6000 ppm, 30 min, 2 veces al día, por 7 días (exposición subaguda) y las ratas control sólo fueron expuestas a aire por el mismo periodo de tiempo. A estas ratas se les aisló el tejido aórtico, se fijaron a un transductor de tensión, y los cambios de tensión fueron registrados por un sistema de adquisición de datos. Los anillos de aorta se pre-estimularon con fenilefrina, las curvas de concentración-respuesta se hicieron con fenilefrina, adrenalina e isoproterenol. Los resultados observados fueron: en las curvas de concentración-respuesta a la fenilefrina, las aortas de ratas control, en ausencia del endotelio, muestran un aumento estadísticamente significativo, en el delta de la contracción en gramos, a partir de la concentración de  $1 \times 10^{-7.5}$  M; también se observó que en las aortas de ratas que fueron expuestas a tolueno, en ausencia del endotelio, se muestra un aumento estadísticamente significativo, en la fuerza de contracción, a las concentraciones de  $1 \times 10^{-7.0}$  y  $1 \times 10^{-6.5}$  M; al hacer la comparación entre los anillos aórticos, de ratas control y ratas expuestas a tolueno, en presencia y ausencia del endotelio, se observó que en aquellas que no conservaron el endotelio hubo una disminución significativa, de la fuerza de contracción, a las concentraciones de  $1 \times 10^{-8.0}$  a  $1 \times 10^{-5}$  M; el efecto máximo en respuesta a la fenilefrina fue estadísticamente significativo en las aortas que conservaron su endotelio, con un valor de  $1.39 \pm 0.14$  g; las  $CE_{50}$  fueron diferentes estadísticamente, en ratas control y ratas expuestas a tolueno, sin presencia del endotelio, con valores de  $6.82 \pm 0.23$  y  $6.53 \pm 0.21$   $-\text{Log}[M]$ , respectivamente. En las curvas de concentración-respuesta a la adrenalina se observó que, en ratas control, en ausencia del endotelio, hubo un aumento del delta de la contracción, estadísticamente significativo, a las concentraciones de  $1 \times 10^{-7.5}$  a  $1 \times 10^{-6.5}$  M; en aortas de ratas que fueron expuestas a tolueno, con endotelio y sin endotelio, no se observaron diferencias estadísticamente significativas; al hacer la comparación entre aortas, de ratas control y ratas expuestas a tolueno, en presencia del endotelio, se observó, mayor fuerza de contracción en aortas de ratas tratadas con tolueno, a concentraciones de  $1 \times 10^{-9.0}$  a  $1 \times 10^{-6.0}$  M, lo cual fue estadísticamente significativo; entre las aortas, de ratas control y ratas expuestas a tolueno, que no conservaron el endotelio, no se observaron diferencias significativas; el efecto máximo en respuesta a la adrenalina, entre ratas control y ratas tratadas con tolueno, en presencia y ausencia del endotelio, no fue estadísticamente significativo; la  $CE_{50}$  fue estadísticamente significativa, en ratas control en presencia del endotelio contra la ausencia de endotelio, con valor de  $5.86 \pm 0.18$   $-\text{Log}[M]$ . En las curvas de concentración-respuesta al isoproterenol se observó que, en ratas control, en presencia y ausencia del endotelio, hubo diferencias estadísticamente significativas a partir de las concentraciones de  $1 \times 10^{-6.5}$  a  $1 \times 10^{-5.0}$  M; en aortas de ratas que fueron expuestas a tolueno, en presencia y ausencia del endotelio, se observaron diferencias estadísticamente significativas, desde las concentraciones de  $1 \times 10^{-6.0}$  a  $1 \times 10^{-5.0}$  M; al hacer la comparación entre los grupos control y los grupos que fueron expuestos a tolueno, en presencia y ausencia del endotelio, no se observaron diferencias estadísticamente significativas; el efecto máximo en respuesta al isoproterenol, fue estadísticamente significativo en las aortas que conservaron su endotelio de ratas control, con un valor de  $-0.02 \pm 0.03$  g. Los resultados de este estudio sugieren que el tolueno afecta a los receptores adrenérgicos vasculares, y esta respuesta parece ser dependiente de la modulación del endotelio.

**Palabras clave:** Tolueno, inhalables, muerte súbita por inhalación, receptores adrenérgicos alfa y beta,



## ABSTRACT

Inhalants are drugs of abuse that alter the state of consciousness after inhalation. Among this group, the most representative compound is toluene, it is the main component of many commercial products and the most studied in terms of behavior and mechanisms of action. It is known that the inhalation of solvents can cause cardiac arrhythmias and can produce "sudden sniffing death", which refers to patients who had a cardiovascular collapse during or after exposure to volatile substances. Toluene exposure modifies the function and expression of voltage-dependent sodium and calcium channels. It is also known that toluene can cause a vasoconstriction response, which is attributed to a probable involvement of adrenergic receptors, and it is suggested that this can contribute to the production of cardiac arrhythmias, which could be caused by adrenergic sensitization to catecholamines. The aim of our study is to evaluate the effect of subacute exposure to toluene on the alpha 1D and beta-adrenergic vascular response in rat aorta. Two groups of male Wistar rats were used, group 1 was exposed to a toluene concentration of 6000 ppm, 30 min, twice a day, 7 days (subacute exposure) 30 min and control rats were only exposed to air for the same period of time. Rat aortic tissue was isolated. Aortic rings were fixed to a tension transducer, and tension changes were recorded by a data acquisition system, aortic rings were pre-stimulated with phenylephrine, concentration-response curves were made with phenylephrine, adrenaline and isoprenaline. The results observed were: in concentration-response curves to phenylephrine, control rat aortas, in the presence and absence of endothelium, show statistically significant differences in the delta of contraction in grams, from the concentration of  $1 \times 10^{-7.5}$  M; it was also observed that in the aortas of rats that were exposed to toluene, in the presence and absence of endothelium, there were statistically significant differences at concentrations of  $1 \times 10^{-7.0}$  and  $1 \times 10^{-6.5}$  M; when aortic rings of control rats and rats exposed to toluene were compared, in the presence and absence of endothelium, it was found that in those that did not preserve the endothelium there were significant differences at concentrations of  $1 \times 10^{-8.0}$  to  $1 \times 10^{-5}$  M; the maximal effect in response to phenylephrine was statistically significant in aortas that preserved their endothelium, with a value of  $1.39 \pm 0.14$  g; EC50 was statistically significant in control rats and rats exposed to toluene, in presence of the endothelium, with values of  $6.82 \pm 0.23$  and  $6.53 \pm 0.21$  -Log[M], respectively. In concentration-response curves to adrenaline, it was observed that, in control rats, in the presence or absence of the endothelium, there were statistically significant differences at concentrations of  $1 \times 10^{-7.5}$  to  $1 \times 10^{-6.5}$  M; in aortas of rats that were exposed to toluene, with endothelium and without endothelium, no statistically significant differences were observed; when comparing aortas of control rats and rats exposed to toluene, in the presence of endothelium, significant differences were observed between the values of the delta of contraction, at concentrations of  $1 \times 10^{-9.0}$  to  $1 \times 10^{-6.0}$  M; between the aortas of control rats and rats exposed to toluene, which did not preserve the endothelium, no significant differences were observed; the maximal effect in response to adrenaline was not statistically significant, between aortas of rats that were exposed to toluene and control, with endothelium and without endothelium; EC50 was statistically significant in control rats in the presence of endothelium, with a value of  $5.86 \pm 0.18$  -Log[M]. In concentration-response curves to isoproterenol it was observed that, in control rats, in the presence and absence of endothelium, there were statistically significant differences from concentrations of  $1 \times 10^{-6.5}$  to  $1 \times 10^{-5.0}$  M; in rat aortas that were exposed to toluene, in the presence and absence of the endothelium, statistically significant differences were observed, from concentrations of  $1 \times 10^{-6.0}$  to  $1 \times 10^{-5.0}$  M; when comparing control groups and groups that were exposed to toluene, in the presence and absence of the endothelium, no statistically significant differences were observed; the maximal effect in response to isoproterenol was statistically significant in aortas that preserved their endothelium, with a value of  $-0.02 \pm 0.03$  g. The results of this study suggest that toluene affect vascular adrenergic receptors, and this response seems to be dependent on endothelium modulation.

**Key words:** Toluene, inhalants, sudden sniffing death, alpha- and beta- adrenergic receptors.



## I MARCO TEÓRICO

### 1.1 Inhalables

Los inhalables, considerados en ocasiones como “drogas olvidadas”, son un amplio grupo heterogéneo de sustancias volátiles que, por décadas, ha sido ignorado su consumo. En el ámbito nacional, el uso de estas sustancias se ha convertido en un problema de salud pública; ocupando el segundo lugar entre las drogas más consumidas entre niños y adolescentes. Los inhalables producen alteraciones en el comportamiento, similares a las del consumo del alcohol o fármacos depresores del sistema nervioso central (SNC), hasta incluso la muerte (Gauthereau, 2020).

#### 1.1.1 Abuso de inhalables

La intoxicación aguda con sustancias volátiles se observa de manera más común después de la inhalación voluntaria de vapores. Lo anterior hace referencia al abuso de sustancias volátiles o disolventes, que están agrupadas en una amplia categoría, como gases o líquidos volátiles, y que se convierten en vapores a temperatura ambiente. Están presentes en varios productos del hogar e industriales (**Tabla 1**), son compuestos orgánicos, principalmente formados de hidrógeno y carbono, donde se incluyen compuestos alifáticos y aromáticos (**Figura 1**) (Cruz y Bowen, 2021; Flanagan y Fisher, 2013; Tormoehlen *et al.*, 2014).

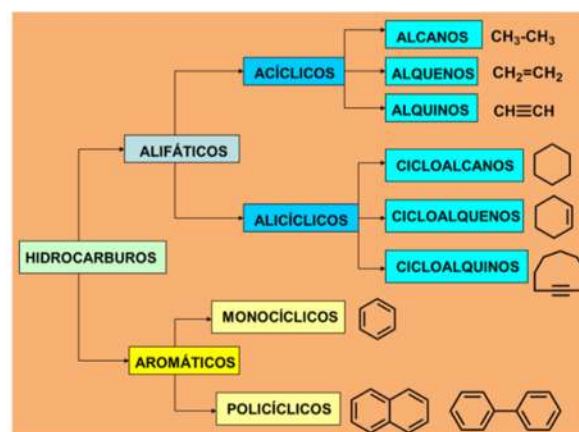


Figura 1. Clasificación de hidrocarburos

**Tabla 1.** Principales inhalables que pueden ser utilizados como drogas de abuso y su composición principal. Tomado y modificado de (Flanagan & Fisher, 2013).

| <b>Producto</b>  | <b>Mayor componente volátil</b>   |
|--|---|
| Adhesivos  |   |
| Pegamento de madera  | Acetato de etilo  |
| Adhesivos de contacto  | Butanona, hexano, tolueno y ésteres   |
| Pegamento frío de goma   | Tolueno y xilenos   |
| Pegamento de cloruro de polivinilo (PVC)   | Acetona, butanona, ciclohexano y tricloroetileno  |
| Adhesivos de carpintería   | Xilenos   |
| Aerosoles  |   |
| Ambientadores  | LPG, DME y/o fluorocarbonos   |
| Desodorantes y antitranspirantes   | LPG, DME y/o fluorocarbonos   |
| Insecticidas para moscas   | LPG, DME y/o fluorocarbonos   |
| Lacas de cabello   | LPG, DME y/o fluorocarbonos   |
| Pinturas   | LPG, DME y/o fluorocarbonos y ésteres   |
| Anestésicos/analgésicos  |   |
| Inhaladores  | Óxido nitroso, ciclopropano, dimetil éter, halotano, enflurano, desflurano, isoflurano, metoxiflurano, sevoflurano y xenón  |
| Geles tópicos  | Cloruro de etilo y fluorocarbonos   |
| Globos de Helio  | Helio, óxido nitroso  |
| Limpiador de carburador productos de lavado en seco, desengrasantes comerciales, yeso quirúrgico/removedor de chicle | DME, diclorometano, HCFC 113, HCFC 141b, metano, 1,1,1-tricloroetano, tetracloroetileno, tolueno, tricloroetileno (fuera de uso por su alta toxicidad: el tetracloruro de carbono y 1,2-dicloropropano) |
| Aceites de cocina en aerosol   | Éter dietílico  |
| Quitamanchas doméstico y limpiadores en seco   | Diclorometano, 1,1,1-tricloroetano, tetracloroetileno y tricloroetileno   |
| Aire comprimido  | DME y fluorocarbonos  |
| Agentes extinguidores  | (BCF, HCFC 11, HCFC 12), HFC 125, HFC 227ea, HFC 236fa, HFC 23, HCFC 123  |
| Gases combustibles   |   |
| Gas butano para rellenar encendedores  | LPG   |
| Butano   | LPG   |
| Propano  | Propano y butano  |
| Líquido de arranque  | Éter dietílico, DME, heptano y LPG  |
| Sistemas de nitro en automóviles   | Óxido nitroso   |
| Pinturas (incluidas las pinturas en aerosol) /diluyentes de pinturas   | Acetona, butanona, ésteres, hexano, metanol, tolueno, tricloroetileno y xilenos   |
| Removedor de pintura   | Diclorometano, metanol y tolueno  |
| Gas refrigerante   | DME, HFC 125, HFC 133 <sub>a</sub> , HFC 143 <sub>a</sub> , HFC 32, HCFC 124  |
| Aromatizantes ambientales  | Nitrito de isobutilo  |
| Líquido corrector  | 1,1,1-tricloroetano   |
| Barnices/lacas   | Xilenos   |
| Dispensadores de crema batida  | Óxido nitroso   |

LPG: su composición puede variar dependiendo del uso que se le dé: no purificado para combustible y purificado para aerosoles y cartuchos para rellenar encendedores, sus principales componentes usualmente son butano, isobutano y propano. DME: Dimetil éter (metoximetano). HCFC: hidroclorofluorocarbono. HCFC 113: 1,1,2-triclorofluoroetano. HCFC 141b: 1,1-dicloro-1,1-fluoroetano. BCF: bromo-cloro-difluorometano. HFC 125: pentafluoroetano. HFC 227ea: 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropano. HFC 236fa: 1,1,1,3,3,3-hexafluoropropano. HFC 23: trifluorometano. HCFC 123: 2,2-dicloro-1,1,1-trifluoroetano. HFC 134<sub>a</sub>: 1,1,1,2-tetrafluoroetano. HFC143<sub>a</sub>: 1,1,1-trifluoroetano. HFC 32: Difluorometano. HCFC 124: 1-cloro-1,2,2,2-tetrafluoroetano.



La toxicidad de los inhalables va depender de la dosis, también de sus características químicas como volatilidad, solubilidad lipídica, viscosidad y tensión superficial. Aquellos con mayor volatilidad se absorben mejor después de la inhalación; mientras que los más lipofílicos van a travesar mejor la barrera hematoencefálica, ocasionando efectos más rápidos en el SNC. Aquellos inhalables que tienen menor viscosidad y tensión superficial resultan más agradables para la inhalación (Tormoehlen *et al.*, 2014).

Balster *et al.* (2009) define el abuso de los inhalables como:

“El abuso de sustancias volátiles que son auto-administradas, como gases o vapores, que inducen un efecto psicoactivo o una alteración del estado de consciencia. Estas sustancias volátiles son legales, fáciles de conseguir, baratas y comunes en los productos del hogar, pueden ser gases, líquidos, aerosoles y, en algunos casos, sólidos”.

El abuso de los inhalables es un problema de salud pública a nivel mundial y tiene una mayor prevalencia de consumo en adolescentes y niños, principalmente del género masculino. Los principales factores de riesgo para su consumo son la edad, el sexo, el bajo nivel socio-económico y el estatus laboral. Otros factores de riesgo son un estrato socioeconómico bajo, la violencia intrafamiliar, pocas oportunidades laborales, baja escolaridad, al menos un familiar consumidor, áreas de alta disponibilidad de la sustancia y la convivencia con amigos o familiares que las consumen (Bale *et al.*, 2002; Gigengack, 2014; Hernández, 2006; Vélez *et al.*, 2016).

## 1.2 Clasificación de inhalables

Existen varias bases sobre las cuales se han clasificado los inhalables de abuso en diversas publicaciones y por investigadores individuales (Balster *et al.*, 2009).

Cruz y Bowen (2021) los dividen en tres categorías:

- a) **Disolventes orgánicos:** Son un amplio grupo de sustancias y a pesar de las diferencias entre cada una, comparten características importantes. Estos inhalables son líquidos volátiles, más pesados que el aire, tienen gran afinidad lipofílica y la mayoría son altamente flamables. La volatilidad y lipofilicidad hacen de ellos sustancias fáciles de abusar, debido a que son absorbidos a través de los pulmones y



rápidamente alcanzan el SNC, atravesando membranas biológicas en un par de segundos.

- b) Gases anestésicos y refrigerantes:** Los compuestos en este grupo pueden clasificarse de diferentes formas, ya que tienen características superpuestas. Los aerosoles son partículas diminutas líquidas o sólidas, nebulizadas en el aire. Estos productos son consumidos en situación de abuso por la experiencia de los efectos psicotrópicos y un estado alterado de la consciencia.
- c) Nitritos de alquilo:** Son consumidos en situación de abuso intencionalmente para mejorar las experiencias sexuales y sensaciones de alucinación.

A excepción de los nitritos, los inhalables tienen cualidades similares a las que produce el alcohol y otras drogas depresoras del SNC.

Balster *et al.* (2009) clasifican a los inhalables de la siguiente manera:

- a) Clasificación química:** Los inhalables comprenden muchos tipos de sustancias químicas distintas. Existe poca evidencia para apoyar la idea de que la estructura química, por sí sola, pueda conferir diferencias en los efectos relacionados con el abuso de inhalables.
- b) Presentación comercial:** Los inhalables se pueden encontrar como gas, vapor, aerosol o líquido. Muchos productos del hogar e industriales se consumen por inhalación, como los productos de limpieza, disolventes de pinturas, cosméticos, impermeabilizantes, medicamentos antianginosos, aromatizantes ambientales, combustibles, anestésicos, pegamentos, productos en aerosol, entre otros.
- c) Propiedades farmacológicas:** La mayoría de las otras clases de drogas de abuso se basan en agrupar aquellas sustancias químicas que comparten efectos que están relacionados con su abuso. En general, muchos inhalables producen efectos farmacológicos similares a los del alcohol y los fármacos depresores del SNC.



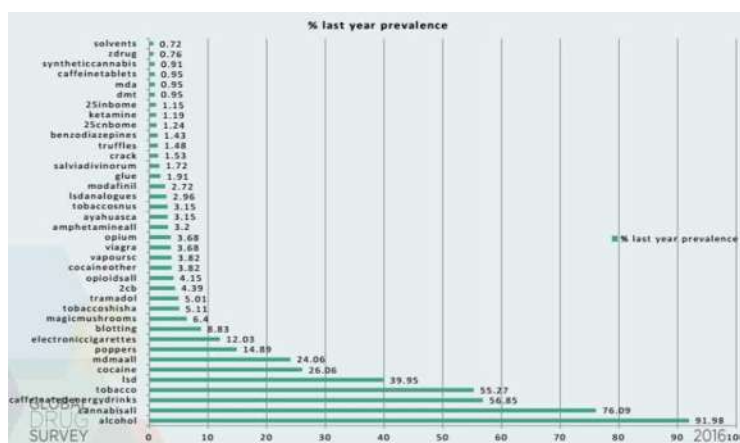
### 1.3 Datos epidemiológicos del consumo de inhalables

Para 2020, alrededor de 284 millones de personas (5.6% de la población) consumieron algún tipo de droga en todo el mundo. En el 2018, se estimó que 269 millones de personas en el mundo habían consumido por lo menos una vez en la vida alguna droga. Esto corresponde al 5.4% de la población global entre las edades de 15 a 64 años. En el periodo de 2009-2018, el número estimado de consumidores de drogas a nivel mundial aumentó de 210 millones a 271 millones (**Figura 2**)



**Figura 2.** Consumidores de drogas en el año 2017. Reporte Mundial de Drogas, 2017.

En 2016 la prevalencia de consumo de inhalables fue de 0.72%, en comparación con el alcohol, que tuvo una prevalencia de 91.98% (**Figura 3**) (Oficina de Naciones Unidas contra la Droga y Delito [UNODC], 2020; (Winstock [GDS], 2021).



**Figura 3.** Prevalencia de consumo de sustancias. Global Drug Survey, 2016.



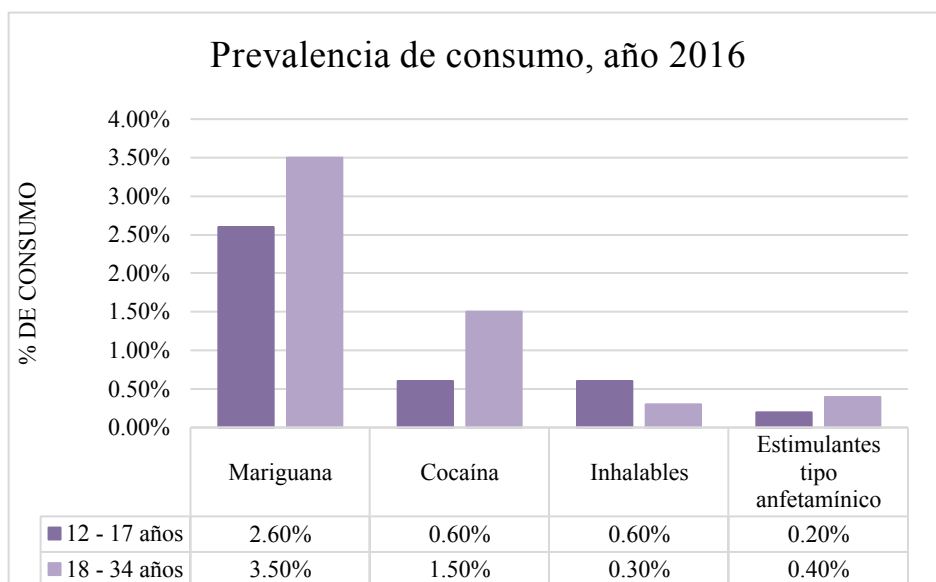
El consumo de inhalables es la manera más común de abuso de drogas en países como Japón, México, Brasil, India, Perú, Rusia y Colombia. En países como Canadá y Estados Unidos de América su consumo ha ido de manera creciente en los últimos años (**Figura 4**) (Bale *et al.*, 2002; Bowen *et al.*, 2006).



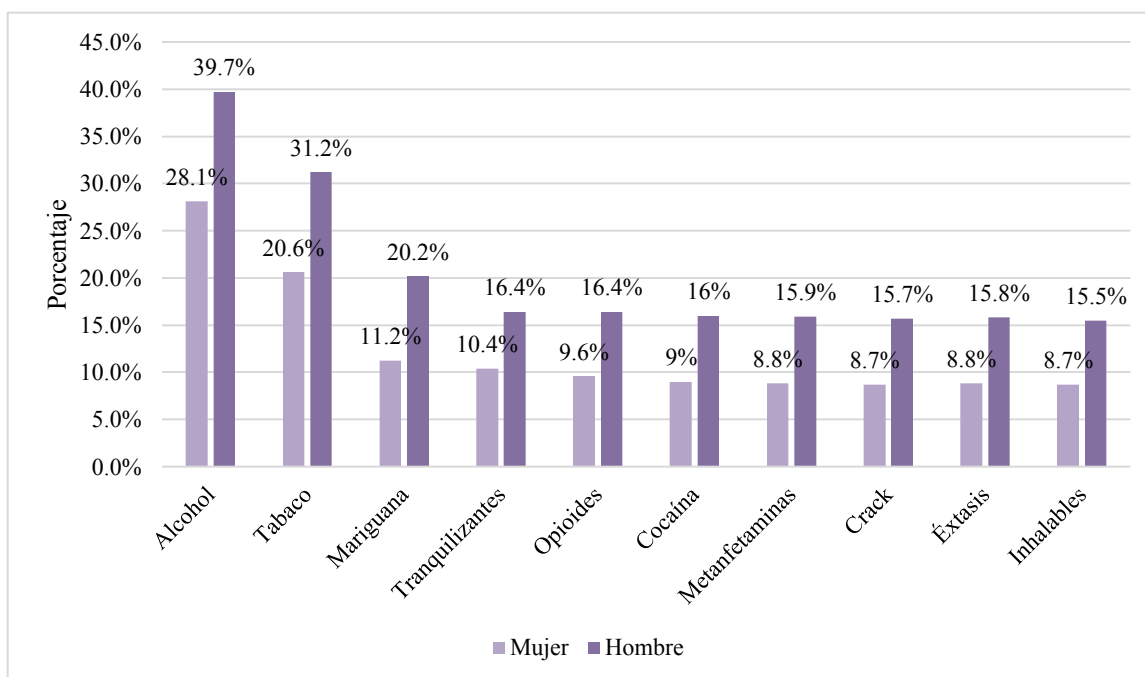
**Figura 4.** Principales países consumidores de inhalables. Tomado y modificado de Bale *et al.*, 2002.

El estudio del consumo de inhalables en México se inició en la década de 1970 y a pesar de que por periodos ha disminuido el interés en los mismos, no ha desaparecido, esto debido a que el consumo prevalece entre la población joven. Estas sustancias han permanecido como una de las principales drogas de consumo a lo largo de los últimos 40 años (Vélez *et al.*, 2016).

El objetivo de la Encuesta Nacional de Consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco (ENCODAT) es evaluar, de manera periódica, las prevalencias globales y las principales variaciones estatales del consumo de drogas en la población de 12 a 65 años en México. En la población de 12 a 17 años se reportó que el consumo de cualquier droga ilegal alguna vez en la vida aumentó de 1.3%, en 2002, a 2.9%, en 2011 (Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz *et al.*, 2017).



**Figura 5.** Consumo de drogas en el último año en la población de 12 a 65 años. Tomada y modificada de ENCODAT, 2016.



**Figura 6.** Consumo de drogas en los últimos 12 meses, en población de 12 a 65 años. Tomado y modificado de Informe Sobre la Situación de la Salud Mental y el Consumo de Sustancias Psicoactivas en México, 2021



Los inhalables, para el 2016, ocupaban el segundo lugar entre las drogas más consumidas, al igual que la cocaína, entre niños y adolescentes con una prevalencia de consumo del 0.6%, y el cuarto lugar en adultos (**Figura 5**), en distintos estados del país, Michoacán ocupa el cuarto lugar de consumo de drogas a nivel nacional, con prevalencia de consumo, en población de 12 a 65 años, de 1.1%. En el informe Sobre la Situación de la Salud Mental y el Consumo de Sustancias Psicoactivas en México, 2021; se menciona que en los últimos 12 meses un 35.8% de los participantes, habían consumido algún tipo de drogas legales e ilegales; siendo los inhalables los menos frecuentes de consumo en población de 12 a 65 años. (**Figura 6**) (Gigengack, 2014, 2016; Secretaría de Salud, 2019).

#### 1.4 Tolueno

El tolueno es el inhalable que más se consume es y uno de los más estudiados en términos de efectos en el comportamiento y mecanismos de acción. Es el mayor componente del “thinner”, tintas, pegamentos, pinturas, barnices, compuestos desengrasantes, gasolina, diluyentes de pintura, entre otros productos (Carreón-Garcidueñas *et al.*, 2018; Cruz y Bowen, 2021).

Los productos a base de tolueno son las principales sustancias inhaladas en México, conocidas como “activo” o “mona”, que es un producto de la calle hecho de tolueno industrial que se puede inhalar solo o combinado con olores como extractos de fruta y polvos aromatizados (Cruz & Bowen, 2021; Gigengack, 2014; 2016).

El tolueno se produce a partir del petróleo, que parte del reformado catalítico de fracciones del crudo para convertirlo en benceno-tolueno-etilbenceno-xileno (BTEX). Aproximadamente un 15% del tolueno producido es separado por la pirólisis de la gasolina, durante la elaboración de etileno y propileno, también es un subproducto del proceso de la coquización en los alquitranes y es un producto del metabolismo del árbol de Tolú, donde se encuentra formando resinas (ATSDR, 2002).

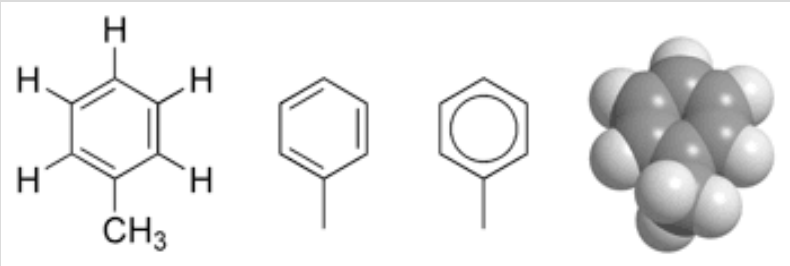
##### 1.4.1 Propiedades fisicoquímicas

El tolueno, también es conocido como toluol, fenilmetano, metilbenzol, benceno monometil y metácido. A temperatura ambiente, en un líquido de color claro a ámbar incoloro, con un olor similar al benceno o al acre. A pesar de que tiene un estado líquido a



temperatura ambiente, su baja presión de vapor da como resultado una gran volatilización. Su punto de inflamabilidad es de 4.4° centígrados y tiene una reacción fuerte con diferentes clases de compuestos químicos, principalmente los que contienen compuestos de nitrógeno, también puede reaccionar con algunos plásticos. Sus propiedades fisicoquímicas se encuentran resumidas en la tabla 2 (ATSDR, 2002; EPA, 2005).

**Tabla 2.** Propiedades fisicoquímicas del tolueno. Tomado y modificado de ATSDR, 2002

| Características         | Información  |
|-------------------------|--|
| Nombre químico          | Tolueno  |
| Sinónimos               | Metilbenceno; fenilmetano; benceno; metil-; toluol; metilbenzol                              |
| Formula química         | C <sub>7</sub> H <sub>8</sub>  |
| Estructura química      |            |
| Registro CAS            | 108-88-3   |
| Peso molecular          | 92.13 g/mol  |
| Color                   | Incoloro, transparente   |
| Estado físico           | Líquido  |
| Densidad a 20 °C        | 0.8631 g/cm <sup>3</sup>   |
| Punto de inflamabilidad | 4.4 °C   |
| Olor                    | Característico, dulce, acre  |
| Solventes orgánicos     | Miscible en alcohol, cloroformo, éter, acetona, ácido acético glacial y disulfuro de carbono |

#### 1.4.2 Farmacocinética

El tolueno se absorbe rápidamente por el tracto respiratorio, en menor cantidad por el tracto gastrointestinal y la piel; es absorbido por la sangre y se distribuye a todo el cuerpo. Se ha demostrado que tiene una variedad de efectos adversos en varios órganos y sistemas. Dado que el tolueno es un hidrocarburo aromático lipófilo, se distribuye fácilmente en tejidos ricos en lípidos, cerebro, médula ósea, hígado y riñones (ATSDR, 2002; EPA; Yasar *et al.*, 2016).

Existen diferentes formas de exposición al tolueno, la exposición ocupacional en los lugares de trabajo, que son durante varias horas al día, 5 días a la semana, que varía de 100 a

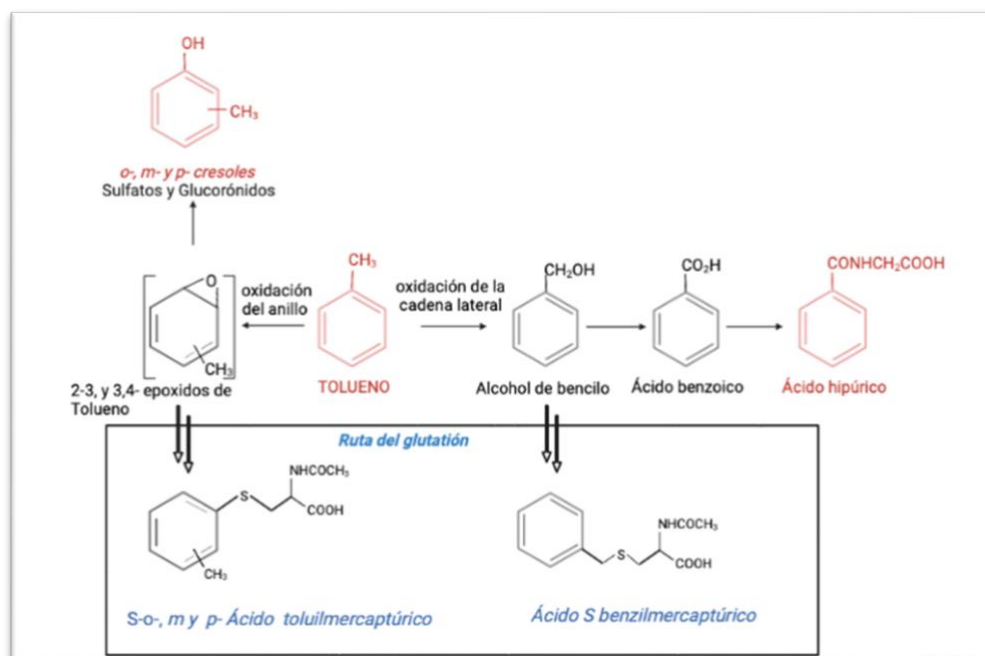


1000 ppm, dependiendo del lugar de trabajo. La exposición de abuso es de manera recurrente, de 15 a 20 inhalaciones, en un periodo corto de tiempo, las concentraciones de tolueno varían de 5000 a 15000 ppm, aunque existen reportes de concentraciones mayores (Bowen et al., 2006; Cruz et al., 2014).

Las formas de uso de los inhalables son:

- Olfateo** (inhalación nasal) de vapores directamente de un recipiente abierto o de una superficie empapada con la sustancia.
- Inhalación (resoplar)** (inhalación oral) con un trapo o paño empapado en una sustancia volátil que se coloca sobre la boca o la nariz.
- Embolsado**, que implica inhalar y exhalar una bolsa de papel o plástico llena con una pequeña cantidad de una sustancia volátil (Anderson y Loomis, 2003; Bowen *et al.*, 2006).

La "elevación" lograda ocurre rápidamente y desaparece con bastante rapidez en comparación con otras drogas. Por lo tanto, un usuario puede olfatear y seguir estando sobrio en la escuela, el lugar de trabajo o en casa, lo que dificulta la detección para los profesores, colegas o padres (Tulsidas, 2010).



**Figura 7.** Metabolismo del tolueno en humanos y ratas. Tomado y modificado de Cosnier et al., 2014.



La hidroxilación y oxidación a ácido benzoico son las principales reacciones del metabolismo del tolueno, y ocurren principalmente en el hígado. La conjugación de glicina con ácido benzoico para formar ácido hipúrico, constituye la ruta principal de desintoxicación y eliminación del tolueno. El primer paso es la hidroxilación del grupo metil para formar alcohol bencílico y se lleva a cabo por enzimas del citocromo P-450 (CYP). El alcohol bencílico es oxidado principalmente a ácido benzoico, luego se conjuga con glicina para formar ácido hipúrico. Una vía menos relacionada del CPY, implica una epoxidación transitoria del anillo aromático para formar *orto*- o *para*-cresol. Los cresoles pueden sufrir diferentes reacciones de conjugación, formando principalmente sulfatos y glucurónidos. La conjugación de glutatión también puede ocurrir resultando en S-bencilglutatión y ácido S-bencilmercaptúrico o S-*p*-toluil glutatión y ácido S-*p*-toluilmercaptúrico (**Figura 7**) (ATSDR, 2002; Cosnier et al., 2014; EPA ORD NCEA Integrated Risk Information System, 2005).

El tolueno es eliminado por el riñón en 12 h, en mayor porcentaje, otra parte es eliminado por la respiración, y una pequeña parte se almacena en la grasa y tarda 72 h en eliminarse por completo (ATSDR, 2002; Cámara-Lemarroy et al., 2012).

### **1.4.3 Efectos agudos y crónicos**

Como se mencionó en el apartado de farmacocinética, se sabe que el tolueno afecta diferentes órganos y sistemas debido a sus propiedades fisicoquímicas, lo cual se encuentra resumido en la **figura 8** y en la **tabla 3**.

#### **1.4.3.1 Efectos agudos**

- a) **Neurológicos:** Los síntomas de la intoxicación aguda por la inhalación de tolueno van a depender de la cantidad consumida y el periodo de tiempo en que se repite la inhalación. La primera etapa se describe como euforia, seguida de una excitabilidad, desinhibición y comportamientos impulsivos, además se pueden producir conjuntivitis, cefalea, lasitud, pérdida del apetito y todos estos efectos simulan estrechamente los efectos tempranos del consumo de alcohol. También se han observado dolor de cabeza, mareos y náuseas, disestesia de la lengua, calambres en las piernas, debilidad muscular, rinitis y visión borrosa. La segunda etapa se caracteriza por una depresión del SNC, con lenguaje desarticulado, confusión,



alucinaciones, diplopía, temblores, marcha atáxica, cambios visuales y debilidad. En la última etapa se presenta somnolencia, con un progreso a la obnubilación con posible coma, convulsiones, alteraciones en la abstracción, la atención, el seguimiento de secuencias, el análisis y la síntesis; también se puede producir insomnio, alteración ultradiana; ilusiones, cambios en la percepción visual, somática, auditiva y táctil, y por último la muerte (*Anderson & Loomis, 2003; Bowen et al., 2006; Tormoehlen et al., 2014; Tsao et al., 2011; Vélez et al., 2016*).

- b) **Cardíacos:** La inhalación de tolueno puede producir anoxemia, paro cardíaco bradiasistólico o depresión respiratoria. En el corazón, las sustancias volátiles pueden causar arritmias ventriculares fatales al sensibilizar el miocardio a las catecolaminas endógenas; además, el tolueno inhibe de manera reversible los canales de sodio ( $\text{Na}^+$ ) cardíacos dependientes de voltaje (*Gauthereau et al., 2005; Hesapcioglu, 2014; Tormoehlen et al., 2014; Tulsidas, 2010; Vélez et al., 2016*).

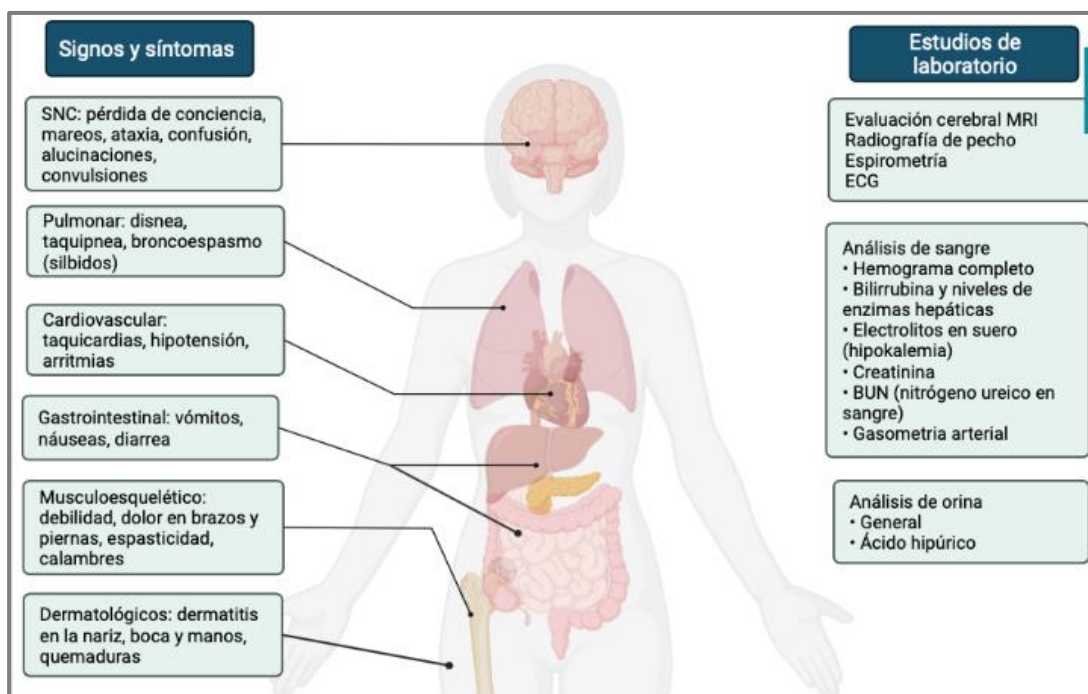
#### 1.4.3.2 Efectos crónicos

- a) **Neurológicos:** El abuso crónico de inhalables puede causar debilidad muscular, tremor, neuropatía periférica, disfunción cerebelosa, encefalopatía crónica, cambios de humor, pérdida de coordinación, alteración de la marcha, espasticidad y demencia. Además, daño cerebral, coeficiente intelectual (CI) bajo, déficit en la formación de conceptos, cambios en la personalidad. También está asociado con desórdenes psiquiátricos (*Anderson y Loomis, 2003; Bowen et al., 2006; Tormoehlen et al., 2014; Vélez et al., 2016*).
- b) **Renales:** Acidosis metabólica grave con acumulación de lactato, hipocalcemia, seguida por la presencia de piedras en los riñones, glomerulonefritis y rabdomiólisis (*Guo, 2015; Tormoehlen et al., 2014*).
- c) **Ingesta/inhalación:** Daño pulmonar, vómito, tos, náuseas, fiebre, taquipnea, taquicardia, agitación, ronquidos, silbidos. También se pueden observar cuadros de neumonía lipoidea (*Tormoehlen et al., 2014*).
- d) **Dermatológicos/gastrointestinales/otros:** Daño en las mucosas y piel, provocando inflamación o quemaduras químicas, alergias, eczema, angioedema, necrosis de la piel. También se pueden ocasionar vómitos, diarrea y dolor abdominal y toxicidad hepática (*Guo, 2015; Tormoehlen et al., 2014*).



**Tabla 3.** Efectos adversos de los inhalables. Tomada y modificada de Anderson y Loomis, 2003.

|  |   |  |
|--|---|--|
| <p><b>Efectos cardiovasculares</b><br/>         Arritmias<br/>         Bloqueo cardíaco inducido por hipoxia<br/>         Fibrosis miocárdica<br/>         Síndrome de muerte súbita por inhalación</p> <p><b>Efectos dermatológicos</b><br/>         Quemaduras<br/>         Dermatitis por contacto<br/>         Eccema perioral</p> <p><b>Efectos gastrointestinales</b><br/>         Hepatotoxicidad<br/>         Náuseas o vómito</p> <p><b>Efectos hematológicos</b><br/>         Anemia aplásica<br/>         Supresión de la médula ósea<br/>         Leucemia</p> | <p><b>Efectos neurológicos</b><br/>         Ataxia<br/>         Degeneración cerebelosa<br/>         Cambio en el habla<br/>         Nistagmo<br/>         Neuropatía periférica<br/>         Polineuropatía sensitivomotora<br/>         Temblor<br/>         Degeneración de la materia blanca</p> <p><b>Efectos neuropsiquiátricos</b><br/>         Apatía<br/>         Demencia<br/>         Depresión<br/>         Insomnio<br/>         Pérdida de memoria<br/>         Poca atención<br/>         Psicosis</p> | <p><b>Efectos Pulmonares</b><br/>         Tos o silbidos<br/>         Disnea<br/>         Enfisema<br/>         Síndrome de Goodpasture<br/>         Neumonitis</p> <p><b>Efectos renales</b><br/>         Perturbación ácido-base<br/>         Fallo renal agudo<br/>         Síndrome de Fanconi<br/>         Acidosis tubular renal</p> |
|--|---|--|



**Figura 8.** Signos y síntomas del mal uso de los inhalables y estudios de laboratorio. Tomado y modificado de Cruz, 2017.



#### 1.4.4 Mecanismo de acción

Los blancos moleculares y celulares del tolueno todavía no son comprendidos en su totalidad y se han investigado utilizando una variedad de preparaciones *in vitro* e *in vivo*. Sus efectos en el comportamiento son similares a los depresores del SNC como el alcohol, los barbitúricos y las benzodiacepinas. La evidencia proveniente de estudios *in vitro* muestra que los inhalables comparten sitios de acción con el etanol, pero en general, el tolueno es más potente. La mayoría de estos estudios sugieren que el tolueno actúa en los canales iónicos implicados en la regulación de la excitabilidad neuronal (Carreón-Garcidueñas *et al.*, 2018; Cruz *et al.*, 2014; Tillar *et al.*, 2002, Cruz *et al.*, 2003).

Se sabe que el tolueno antagoniza, de forma dependiente de la dosis, la función de los receptores a N-metil-D-asparato (NMDA) recombinantes a concentraciones micromolares ( $\mu\text{M}$ ) en ovocitos de *Xenopus laevis*, esta inhibición fue rápida, casi completa y reversible (Cruz *et al.*, 1998).

El tolueno puede producir alteraciones en subunidades específicas de los receptores del ácido  $\gamma$ -aminobutírico tipo A ( $\text{GABA}_A$ ), aumentado su funcionamiento en ovocitos. El disolvente potencia el funcionamiento de los receptores de glicina (Gly-R) y actúa intensificando las corrientes evocadas en los receptores de serotonina 5HT-3 ( $5\text{-HT}_3\text{-R}$ ). Aumenta el contenido de dopamina (DA) en el tejido estriatal de ratas y en la corteza prefrontal (Bale *et al.*, 2005; Gerasimov *et al.*, 2002; Lopreato *et al.*, 2003; Stengard *et al.*, 1994; Wallukat, 2002; Williams *et al.*, 2004; Beckstead *et al.*, 2002).

El tolueno inhibe el funcionamiento de los receptores colinérgicos nicotínicos cuando están expresados en ovocitos y en neuronas hipocampales. Esta inhibición es dependiente de la concentración y es reversible (Bale *et al.*, 2002).

El tolueno bloquea los canales de  $\text{Na}^+$  cardíacos y del músculo esquelético regulados por voltaje, en función de la concentración y de una manera dependiente del uso y de la frecuencia, también participa directamente sobre el funcionamiento de los canales de  $\text{Na}^+$  y de  $\text{Ca}^{2+}$  regulados por voltaje en corazones de rata (Carreón-Garcidueñas *et al.*, 2018; Cruz *et al.*, 2003; Gauthereau *et al.*, 2005).

Al actuar el tolueno sobre los canales de calcio dependientes de voltaje expresados en células de feocromocitoma, en concentraciones de 0.3-3000  $\mu\text{M}$ , inhibe el aumento de  $\text{Ca}^{+2}$



intracelular inducido por cloruro de potasio (KCl) de una manera dependiente a la concentración (Tillar *et al.*, 2002).

#### **1.4.5 Muerte súbita por inhalación**

El corazón parecer ser un órgano diana sensible al efecto del tolueno y a menudo se ha ignorado su cardiotoxicidad. El síndrome de muerte súbita por inhalación ocurre cuando el consumidor de inhalables se sobresalta, esto puede ser debido a que una figura de autoridad lo descubre, y esto provoca una liberación de catecolaminas endógenas que pueden desencadenar en una fibrilación ventricular (Anderson y Loomis, 2003; Hesapcioglu, 2014; Yasar *et al.*, 2016).

Las muertes súbitas por inhalación se reportaron por primera vez en los años sesenta y se le acuñó este término a las muertes que eran producidas por asfixia o por un fallo respiratorio. Bass (1970) en su estudio observó que la muerte súbita ocurría frecuentemente después de la inhalación combinada con algún tipo de ejercicio o con una situación de estrés, habiendo una liberación de catecolaminas.

Taylor y Harris (1970) postularon que personas que inhalaban pegamentos o vapores de disolventes morían repentinamente y esto podía ser debido a fibrilación ventricular, bradicardia, bloqueo auriculoventricular o falla ventricular aguda, que podía estar inducida por una sensibilización a la adrenalina.

En el año 1971, Reinhardt *et al.* sugieren que los paros cardíacos agudos pueden ser el resultado de una fibrilación ventricular, debida a la sensibilización del corazón a la adrenalina, por la inhalación de altas concentraciones de disolventes.

El síndrome de muerte súbita por inhalación es un fenómeno extraño, pero serio, que puede ser secundario a arritmias cardíacas, ocurre durante las primeras experiencias o después de varios episodios de abuso de inhalables y es la causa más común de muerte entre los consumidores. Estudios experimentales han indicado que el tolueno puede ocasionar varios efectos electrofisiológicos y la importancia clínica de estos efectos aún no está bien establecida (Alper *et al.*, 2008; Guo, 2015; Ikeda *et al.*, 1990; Tsao *et al.*, 2011).

Las investigaciones sugieren que la muerte súbita por inhalación puede estar relacionada a una sensibilización por un aumento de catecolaminas endógenas. En un estudio realizado por Magos *et al.* (1990), se sugiere que el tolueno, a diferencia del benceno, no aumenta la



incidencia de extrasístoles ventriculares inducidas por epinefrina, sino que parece disminuirla. Si bien la magnitud del efecto antiarrítmico del tolueno pareció ser limitada, el disolvente prácticamente abolió las arritmias inducidas por epinefrina, y sólo previno parcialmente las alteraciones del ritmo más severas provocadas por la ligadura coronaria o por aconitina.

En un caso clínico reportado por Yasar *et al.* (2016), un paciente de 21 años de edad, consumidor recurrente de tolueno, sin antecedentes de enfermedades cardiovasculares, es ingresado al departamento de emergencias. Su electrocardiograma (ECG) muestra una taquicardia sinusal, con depresiones en el segmento ST en todas las derivaciones. El intervalo QTs y la duración de QRS fueron de 495 milisegundos (ms) y 128 ms, respectivamente. El estudio menciona que la cardiotoxicidad del tolueno a menudo ha sido ignorada y que la exposición a éste puede ocasionar arritmias cardiacas y muerte súbita por inhalación, sugiriendo que la inhalación del disolvente puede ocasionar una sensibilización del miocardio a las catecolaminas endógenas, jugando un papel importante en el desarrollo de cardiomiopatías o arritmias fatales (Yasar et al., 2016).

En un estudio reportado por Alper *et al.* (2008), el objetivo era investigar el efecto del abuso del tolueno sobre el intervalo QT y la dispersión QT. El estudio incluía 44 pacientes consumidores de inhalables y 34 controles sanos. Los pacientes fueron divididos en 3 grupos: los consumidores de tolueno con antecedentes de síncope inexplicable ( $n = 20$ ), consumidores de tolueno asintomáticos ( $n = 24$ ) y sujetos de control sanos ( $n = 34$ ). Se midieron los intervalos QT, la dispersión QT y los valores de dispersión QT corregidos. El QT y la duración del QT corregido fueron mayores en el grupo sintomático que en el grupo asintomático y mayores en el grupo asintomático que en los controles. El QT y la dispersión QT corregidos en ambos casos fue significativamente mayor que en los controles y en el grupo asintomático ( $p=0.001$ ) (Alper *et al.*, 2008).

Sus hallazgos demuestran que el intervalo QT y la dispersión QT corregida aumentan en consumidores de tolueno sintomáticos o asintomáticos. También se encontró que la dispersión de QT y QTc era más larga en el grupo sintomático que en el grupo asintomático. Los efectos cardiovasculares del tolueno son graves, impredecibles y posiblemente fatales; su consumo parece reducir el umbral de susceptibilidad del miocardio a los efectos arritmogénicos de las catecolaminas (Alper *et al.*, 2008).



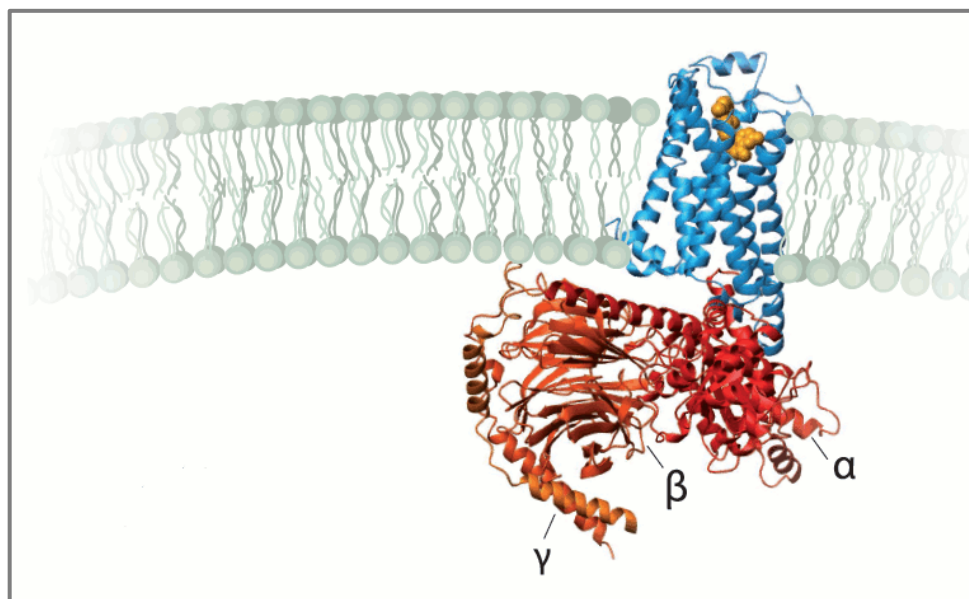
Lefkowitz et al. (2000) establecieron una relación entre los receptores adrenérgicos cardiacos y las catecolaminas endógenas, donde reportaron que una sobreestimulación del sistema  $\beta$  adrenérgico cardiaco puede contribuir a la presencia de arritmias cardiacas, lo cual es iniciado por un aumento en la cantidad de catecolaminas endógenas, marcando una sensibilización adrenérgica y finalizando con la muerte.

## 1.5 Receptores

Los receptores son macromoléculas que intervienen en la señalización química entre células y en el interior de éstas; pueden encontrarse en la membrana de la superficie celular o en el citoplasma. Los receptores activados regulan, ya sea de forma directa o indirecta, los procesos bioquímicos celulares. Los receptores proporcionan mecanismos por los cuales las células controlan y responden a las variaciones en su entorno (Farinde, A. 2021; Mckee 2013).

### 1.5.1 Receptores adrenérgicos

Son proteínas que pertenecen a los receptores acoplados a proteína G (GPCR), son activados por catecolaminas, principalmente adrenalina (ADRE) y noradrenalina (NA).



**Figura 9.** Estructura de un cristal de Kobilka de un receptor  $\beta$ -adrenérgico activado (color azul). Se pueden ver una hormona, situada en el exterior de la célula (esferas color naranja, parte superior de la imagen) y una proteína G (color rojo) unida al receptor en el interior. Tomado y modificado de Kobilka, 2013.



Comprenden una gran familia de receptores transmembrana. Están conformados por siete regiones hidrofóbicas o hélices transmembranales, también son conocidos como receptores de siete dominios transmembranales (7TM), tienen tres asas extracelulares importantes para la unión del ligando y tres asas intracelulares, así como un extremo amino que es extracelular y un extremo carboxilo que se encuentra hacia el interior de la célula (**Figura 9**) (Alcántara-Hernández y Hernández-Méndez, 2018; Blumenthal, 2013).

Los receptores adrenérgicos se encuentran distribuidos en el SNC, sistema nervioso autónomo y en tejidos periféricos. Están localizados principalmente en las membranas de células cardíacas, miocitos, fibroblastos y células endoteliales; y tienen una función importante en la regulación cardíaca y su morfología. Son dianas moleculares de diferentes tipos de fármacos (Alcántara-Hernández y Hernández-Méndez, 2018; Capote et al., 2015; Wallukat, 2002).

Los receptores adrenérgicos desempeñan un papel importante en la regulación del flujo sanguíneo en las arterias coronarias. La regulación homeostática del aparato cardiovascular es controlada por el sistema nervioso autónomo. Múltiples señales físicas y químicas bombardean permanentemente la superficie de todas las células. Algunas de esas señales no entran en las células, sino que se unen a los receptores situados en la superficie celular e inician un flujo de información que se traslada al interior de la célula (Jensen et al., 2009; Tacchi, 2008).

Los GPCR envían señales a través de una variedad de mecanismos que afectan la función cardíaca, incluida la contractibilidad y la hipertrofia. Cada una de las vías dependientes e independientes de la proteína G tiene la capacidad de iniciar numerosas cascadas de señalización intracelular para mediar estos efectos (Tilley, 2011).

Los receptores adrenérgicos (AR) responden a cambios en el ambiente, como el incremento en la concentración de ADRE y NA en la circulación sanguínea. La unión del agonista al receptor induce en él un cambio de conformación que le permite acoplarse a la proteína G heterotrimérica, al ser activado intercambia guanósín difosfato (GDP), que está unido a la subunidad  $\alpha$  en su estado inactivo, por guanósín trifosfato (GTP). La liberación de GDP permite la disociación de la subunidad  $\alpha$ , que tiene GTP, del dímero  $\beta\gamma$ . La hidrólisis



de GTP a GDP por la subunidad  $\alpha$  (con actividad de GTPasa) permite que las subunidades  $\alpha$  y  $\beta\gamma$  se asocien (Alcántara-Hernández y Hernández-Méndez, 2018).

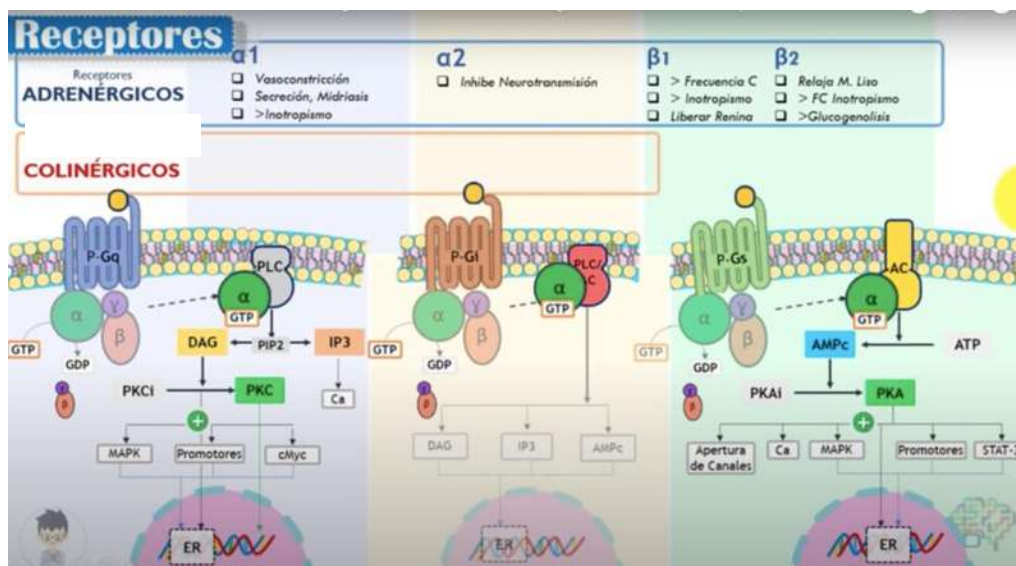


Figura 10. Receptores acoplados a proteínas G. Tomado de Vargas, 2020.

Son cuatro las familias de proteínas G heterotriméricas:  $G_s$  (estimuladora),  $G_i$  (inhibitoria),  $G_{q/11}$  y  $G_{12/13}$ . Al activarse la proteína G ( $G_{q/11}$  y  $G_{12/13}$ ) se activan enzimas efectoras de la membrana plasmática como la fosfolipasa C que produce inositol 1,4,5-trifosfato ( $IP_3$ ) y 1,2-diacilglicerol (DAG), y con esto se observa una liberación de iones  $Ca^{2+}$  del retículo endoplásmico. La activación de estos segundos mensajeros va a activar proteínas amplificadoras de señal extracelular como la proteína cinasa C (PKC) y la proteína cinasa A (PKA) (Figura 10) (Alcántara-Hernández y Hernández-Méndez, 2018).

Tabla 4. Receptores adrenérgicos en sistema cardiovascular, localización y función. Tomada y modificada de Westfall *et al.*, 2013.

| Receptor adrenérgico | Localización               | Función   |
|----------------------|----------------------------|---|
| Alfa 1D              | Aorta                      | Receptor predominante para la vasoconstricción en la aorta                            |
| Beta 1               | Corazón                    | Mediador dominante de los efectos positivos inotrópicos y cronotrópicos en el corazón |
| Beta 2               | Corazón y vasos sanguíneos | Relajación del músculo liso   |



La familia de los receptores adrenérgicos se divide de acuerdo a sus efectos funcionales, en sistema cardiovascular se dividen en: en alfa, tres tipo alfa 1:  $\alpha_{1a}$ ,  $\alpha_{1b}$ ,  $\alpha_{1d}$  (vasoconstricción), y tres alfa 2:  $\alpha_{2A}$ ,  $\alpha_{2B}$ ,  $\alpha_{2C}$ ; y beta, tres tipos:  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$  (vasodilatación), sus características se encuentran sintetizadas en la **tabla 4** (Cotecchia et al., 2012; Wallukat, 2002).

### 1.5.1.1 Receptores $\alpha$ - adrenérgicos.

Los receptores adrenérgicos  $\alpha$  ( $\alpha$ -AR) median efectos adaptativos y protectores en el corazón. Estos efectos pueden ser particularmente importantes en fallos cardiacos, cuando se elevan los niveles de las catecolaminas y los receptores  $\beta$ -AR tienen un mal funcionamiento (Jensen *et al.*, 2011).

Existe una distribución heterogénea en cuanto a la función de los subtipos de receptores adrenérgicos  $\alpha_1$  en arterias y venas. Los receptores  $\alpha_{1D}$  son el subtipo más abundante (85%) y funcional en las arterias coronarias epicárdicas y en las células del músculo liso. Tienen una función predominante en la vasoconstricción y en mantener la presión sanguínea. Su estimulación por catecolaminas endógenas produce una ligera contracción en arterias coronarias normales (Clements et al., 1997; Jensen et al., 2009).

Los  $\alpha$ -AR controlan varios procesos adaptativos, como inotropía positiva, transcripción genética, síntesis de proteínas, metabolismo de la glucosa y la inhibición de la muerte celular. La vía de señalización intracelular desencadenada por los tres subtipos de  $\alpha_1$ -AR resulta del acoplamiento a las proteínas Gq/11, que conduce a la activación de la fosfolipasa C $\beta$ , la hidrólisis del fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato en DAG/inositol trisfosfato, la movilización del calcio intracelular y la activación de la PKC. Tras la activación del receptor, las cinasas de GPCRs (GRKs) y/o la PKC fosforilan los  $\alpha_1$ -AR, lo que lleva al reclutamiento de las  $\beta$ -arrestinas; éstas actúan como un andamiaje para otras proteínas que desencadenan un conjunto distinto de señalización independiente de la proteína G a través de la activación de cinasas reguladas por señales extracelulares (ERK1/2) (Akinaga et al., 2019; Jensen et al., 2011).

Un mayor predominio de receptores  $\alpha_{1D}$ , en arterias de conducción, resulta en una mayor sensibilidad a catecolaminas y su activación produce una vasoconstricción persistente que puede continuar incluso después de la retirada de los agonistas, esto impide cambios bruscos



en el calibre de los vasos durante variaciones de los niveles circulantes de catecolaminas (Akinaga et al., 2019).

### 1.5.1.2 Receptores $\beta$ - adrenérgicos.

Los receptores cardiacos más abundantes son los  $\beta_1$ , desempeñan funciones importantes, ya que causan vasodilatación en el flujo sanguíneo coronario. La activación de estos receptores causa varias reacciones fisiológicas, como la contracción cardiaca y la secreción de renina en las células yuxttaglomerulares del riñón (Jensen *et al.*, 2009, 2011; Wallukat, 2002).

Los  $\beta$ -AR integran un sistema proteico ternario:  $\beta$ -AR, proteína G de acoplamiento y enzimas como la AC que producen 3'-5' adenosina monofosfato (cAMP). El principal mecanismo de acción de cAMP es la activación de la proteína cinasa A (PKA), capaz de fosforilar numerosos sustratos. En las células endoteliales, la activación de  $\beta$ -AR promueve un aumento de los niveles citoplasmáticos de  $Ca^{+2}$ , favoreciendo la unión de  $Ca^{+2}$  con calmodulina y este complejo se une con la enzima óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS), resultando en la producción de óxido nítrico (NO). La activación del  $\beta$ -AR en el músculo liso vascular y la consiguiente activación de la PKA reduce la concentración citoplasmática de  $Ca^{+2}$  y su afinidad por la calmodulina, lo que produce una relajación vascular (Neto *et al.*, 2006).



## II JUSTIFICACIÓN

El abuso de sustancias volátiles constituye un desafío persistente en los profesionales de la salud, esto debido a que el daño asociado a la inhalación puede variar dependiendo de la sustancia, la cantidad, el patrón de uso, la edad, el consumo de drogas concomitantes y si existen complicaciones médicas ( Cruz, 2017).

El estudio de los disolventes inhalables en México se inició en la década de 1970 y a pesar de que por periodos ha disminuido el interés en el mismo, éste no ha desaparecido y debido a que el consumo prevalece entre la población joven, es relevante actualizar el estado del arte en la materia (Vélez *et al.*, 2016).

El abuso de inhalables es un problema de salud a nivel mundial, ya que la adquisición de estos es legal, por lo que no es necesario contar con la mayoría de edad para comprarlos y es la segunda droga de abuso más consumida en nuestro país por niños y adolescentes.

El abuso de inhalables no se suele identificar como una clase única de drogas de abuso y, por lo tanto, rara vez se incluye en las discusiones sobre políticas de abuso de drogas o en las estrategias locales, nacionales o internacionales para la prevención, educación, tratamiento o control del abuso de drogas (Balster *et al.*, 2009).

Los efectos cardiovasculares que se conocen al respecto del consumo de tolueno pueden involucrar a los canales de  $\text{Na}^+$  activados por voltaje, que son los responsables de la despolarización y la conducción del potencial de acción en el corazón. Existe evidencia de que el tolueno inhibe estos canales de  $\text{Na}^+$ , ocasionando arritmias cardíacas que pueden llevar a la muerte súbita por inhalación (Carreón-Garcidueñas *et al.*, 2018; Cruz *et al.*, 2003).

Los resultados obtenidos de los experimentos de Carreón-Garcidueñas *et al.* (2018) demuestran que, en ratas expuestas a tolueno: la presión de perfusión aumentó, probablemente debido a un efecto vasoconstrictor del disolvente por sobreestimulación adrenérgica; la presión desarrollada en el ventrículo izquierdo fue elevada en ratas expuestas de forma aguda al tolueno, como resultado del aumento de la presión de perfusión y que la frecuencia cardíaca aumentó en las ratas expuestas al disolvente, probablemente debido a una sensibilización a las catecolaminas. Este es el primer estudio en el que los parámetros mencionados anteriormente, evaluados en corazones de ratas expuestas al tolueno, disminuyeron en presencia de bloqueadores de los canales de  $\text{Na}^+$  y de  $\text{Ca}^{2+}$ , lo que sugiere la participación de estos canales en los efectos cardíacos de la exposición aguda a 6000 ppm



de tolueno. Además, se observó que la exposición aguda al tolueno produjo un aumento en la densidad de los receptores adrenérgicos  $\beta_1$  y una disminución en la expresión de los canales de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$ .

Con base en los hallazgos anteriores, se propone este trabajo de investigación, ya que se desconoce la acción del tolueno sobre la respuesta adrenérgica en el tejido aórtico; por lo tanto, se pretende analizar si la exposición a tolueno modifica la respuesta adrenérgica vascular en ratas.

### III HIPÓTESIS

La exposición subaguda a tolueno aumenta significativamente la respuesta adrenérgica en la aorta de ratas.

### IV OBJETIVOS

#### 4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la exposición a tolueno sobre la respuesta vascular adrenérgica alfa y beta en aorta de rata.

#### 4.2 Objetivos específicos

Determinar el efecto de la exposición subaguda a tolueno sobre la respuesta adrenérgica en aorta de rata.

Evaluar la participación de los receptores adrenérgicos alfa y beta en la respuesta vascular adrenérgica en ratas expuestas a tolueno.

### V MATERIALES Y MÉTODOS

#### 5.1 Objeto de estudio

##### 5.1.1 Animales

Se usaron ratas Wistar macho de 250-300 g de peso, las cuales tuvieron periodos de luz oscuridad de 12/12h, alimento y agua *ad libitum*.

#### 5.2 Aspectos éticos

Todos los procedimientos experimentales se aprobaron por el Comité de Ética Institucional y se realizaron de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana para el uso y cuidado de animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999, SAGARPA, México).



### 5.3 Grupos experimentales

Se emplearon ratas control (expuestas a aire) y ratas expuestas a tolueno (6000 ppm).

- Los grupos control y tolueno fueron expuestos de manera subaguda (30 min, 2 veces al día, durante 1 semana) a aire o a 6000 ppm de tolueno, respectivamente.

### 5.4 Exposición a disolventes

Las ratas se colocaron en una cámara de exposición estática de 29 L, que consiste en un frasco cilíndrico cromatográfico cubierto con una tapa acrílica, con puertos de inyección y un ventilador que se proyecta dentro de la cámara sobre una plataforma de malla de acero inoxidable.

Se colocó un trozo de papel filtro en la malla y, después de colocar a una rata de manera individual en la cámara y volver a poner la tapa, se inyectó una cantidad predeterminada del disolvente (calculada por la ecuación de Nelson, método para producir diversas atmósferas de gas (Nelson, 1972) sobre el papel filtro a través de un puerto de inyección (**figura 11**).

**Figura 11.** Ecuación de Nelson.

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

*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) = 29L

*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

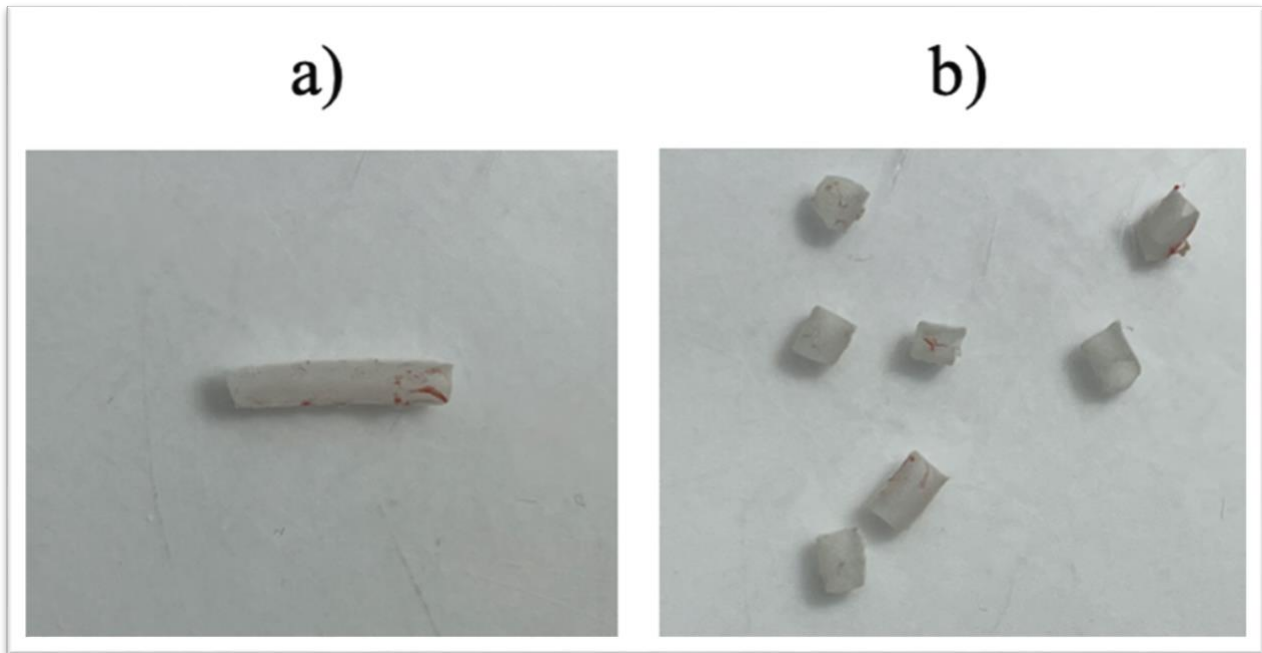
Posteriormente se encendió el ventilador, el cual ayuda a volatilizar el disolvente rápidamente y a distribuirlo de manera homogénea dentro de la cámara. Aunque la cámara de exposición es un sistema cerrado, se debe colocar una sola rata, durante no más de 30 minutos, para evitar la acumulación de CO<sub>2</sub>, como se muestra en la **figura 12**. Las concentraciones de prueba se determinaron usando curvas estándar, previamente construidas usando diferentes concentraciones de tolueno (1000-6000 ppm)



**Figura 12.** Cámara de exposición.

### 5.5 Contracción de aorta aislada

Las ratas se sacrificaron con pentobarbital sódico (dosis eutanásica 125 mg/Kg), se les aisló la aorta (**Figura 13a**) y ésta se cortó en anillos (5 mm de longitud) (**figura 13b**); se les quitó el endotelio a la mitad de los anillos; además, se limpiaron de grasa, se sumergieron en solución de Krebs-Henseleit (mM): NaCl, 118; KCl, 4.7;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1.2;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 1.2;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 2.5;  $\text{NaHCO}_3$ , 25; dextrosa, 11.7; y EDTA, 0.026 (Ibarra *et al.*, 2000). Los anillos arteriales se colocaron en cámaras para tejido aislado, se fijaron al fondo de la cámara y a un transductor de tensión isométrica Grass FT03 (Astro-Med, Inc. West Warwick, RI, EUA), se mantuvieron a 37 grados centígrados, pH 7.4 y con un burbujeo constante de 95%  $\text{O}_2$  y 5%  $\text{CO}_2$  (**Figura 14a y 14b**).



**Figura 13. a)** Aorta aislada de rata y **b)** anillos arteriales.



**Figura 14. a)** Equipo de órgano aislado y **b)** cámaras para tejido aislado.



### **5.5.1 *Curva concentración-respuesta a fenilefrina***

Los anillos arteriales se sometieron a una tensión inicial óptima de 3 g y se pre-estimularon en 3 ocasiones con una concentración submáxima de fenilefrina ( $1 \times 10^{-7}$  M), después de dejar al tejido en recuperación, para analizar las respuestas a la fenilefrina se hicieron las curvas de concentración–respuesta a fenilefrina ( $1 \times 10^{-9}$  -  $1 \times 10^{-5}$  M).

### **5.5.2 *Curva concentración-respuesta a adrenalina***

Los anillos arteriales se sometieron a una tensión inicial óptima de 3 g y se pre-estimularon en 3 ocasiones con una concentración submáxima de fenilefrina ( $1 \times 10^{-7}$  M), después de dejar al tejido en recuperación, para analizar las respuestas a la adrenalina se hicieron las curvas de concentración–respuesta a adrenalina ( $1 \times 10^{-9}$  -  $1 \times 10^{-5}$  M).

### **5.5.3 *Curva concentración-respuesta a isoproterenol***

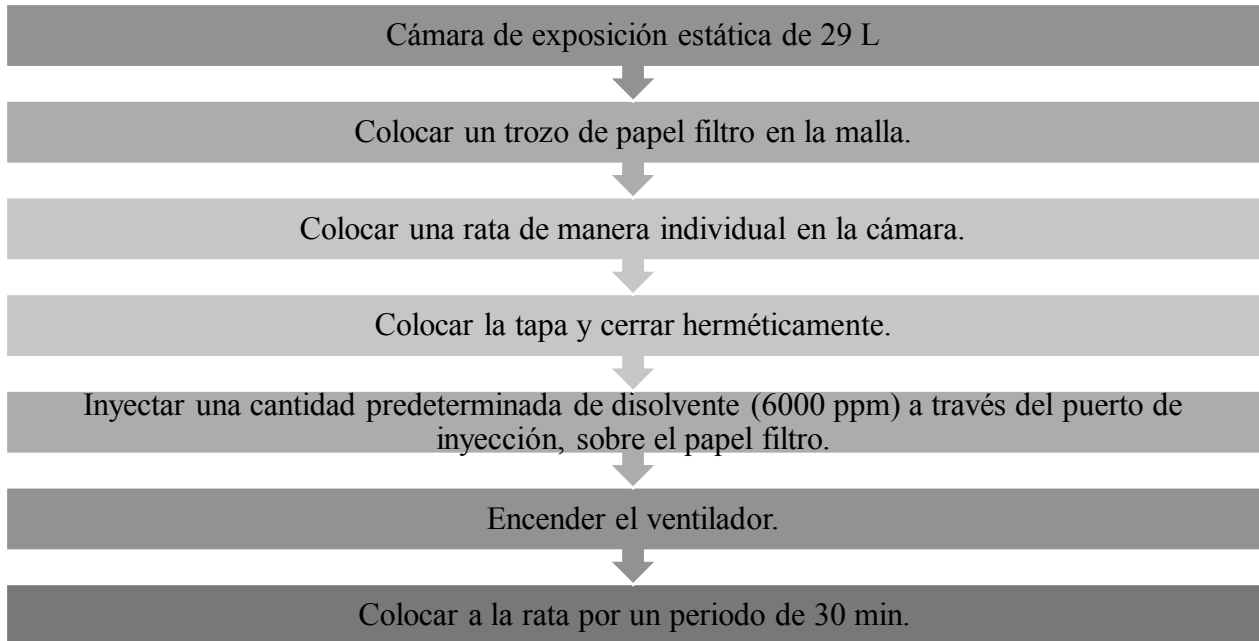
Los anillos arteriales se sometieron a una tensión inicial óptima de 3 g y se pre-estimularon en 3 ocasiones con una concentración submáxima de fenilefrina ( $1 \times 10^{-7}$  M), después de dejar al tejido en recuperación, para analizar las respuestas al isoproterenol se construyeron las curvas de concentración–respuesta a isoproterenol ( $1 \times 10^{-9}$  -  $1 \times 10^{-5}$  M).

Los cambios en la tensión se registraron por acoplamiento con un sistema de adquisición de datos (Biopac Systems Inc. Santa Barbara, CA, EUA).

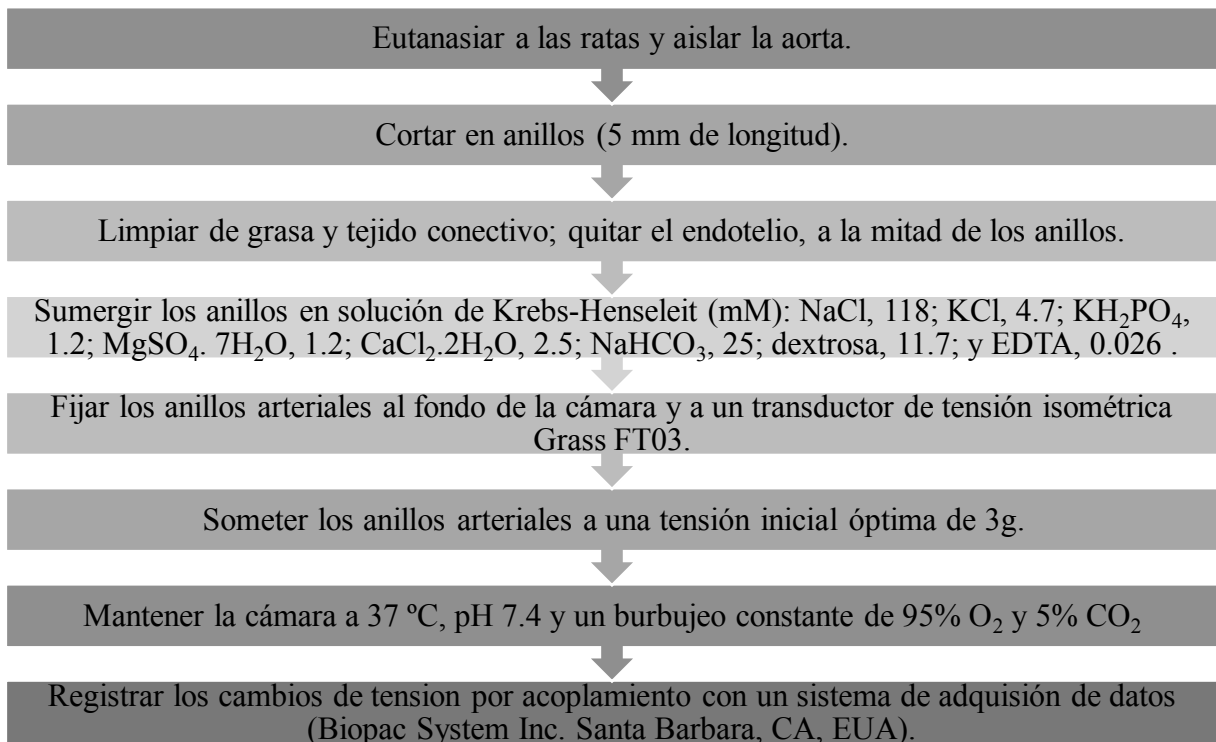


## 5.6 Protocolo experimental

### 5.6.1 Exposición a disolventes



### 5.6.2 Contracción de aorta





## VI RESULTADOS

En los experimentos realizados se midió la diferencia de la contracción en respuesta a las concentraciones crecientes de fenilefrina, adrenalina e isoproterenol.

### 6.1 Curvas concentración-respuesta a la fenilefrina

En la **fig. 15** se observó un aumento en el incremento de la contracción a concentraciones crecientes de fenilefrina ( $1 \times 10^{-9}$  M a  $1 \times 10^{-5}$ ).

En la **fig. 15a (control)**, se observó que, en los anillos aórticos, en ausencia y presencia del endotelio, la acción de la fenilefrina a concentraciones crecientes, sobre el músculo liso vascular muestra una tendencia a aumentar la respuesta contráctil. Al aumentar las concentraciones de fenilefrina hay un efecto significativo de la respuesta contráctil, siendo mayor la respuesta de contracción en los anillos aórticos a los cuales se les quitó el endotelio, esto se observa a partir de las concentraciones de  $1 \times 10^{-7.5}$  M hasta la concentración de  $1 \times 10^{-5}$  M,  $*p < 0.05$ ,  $n = 5$ .

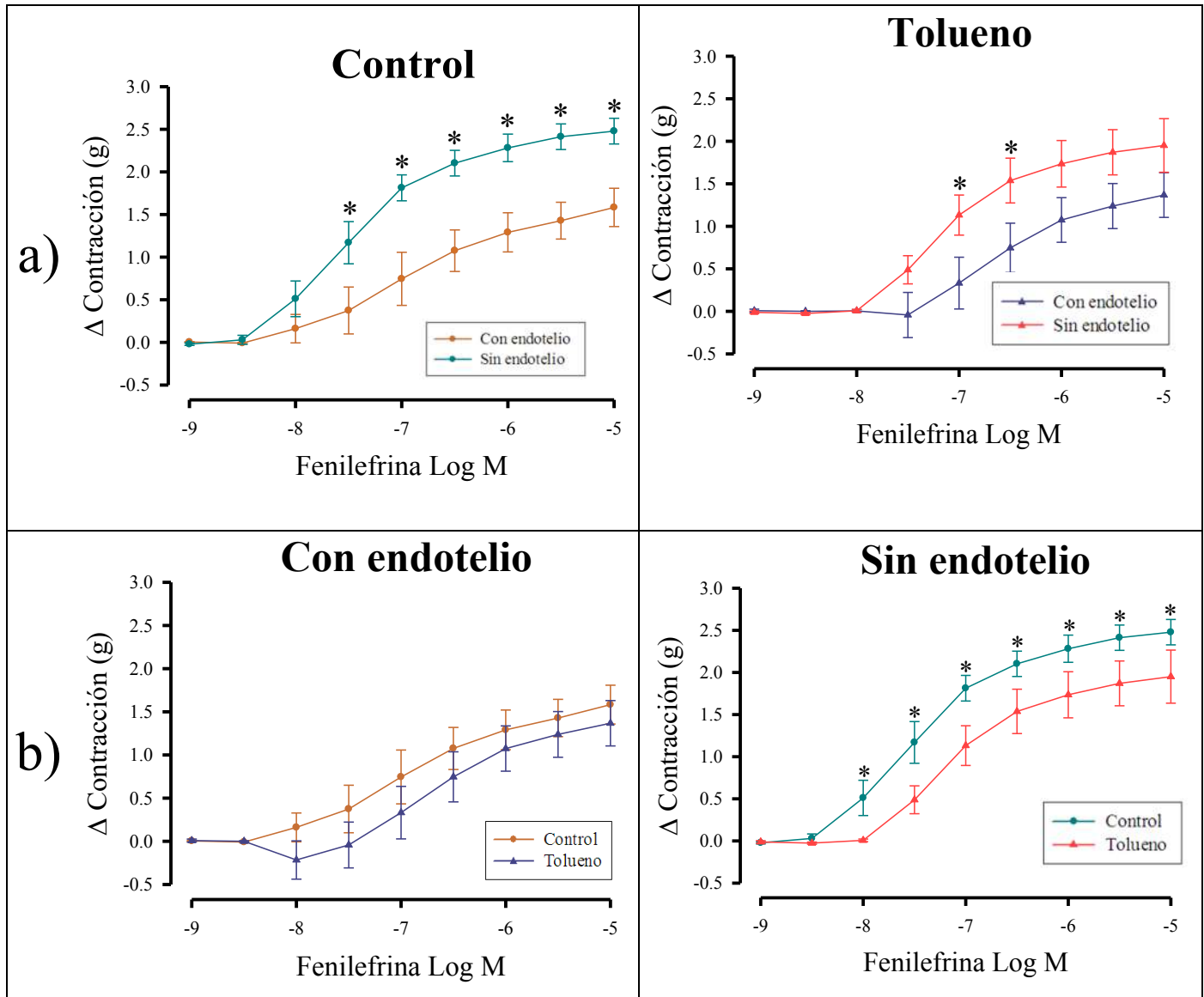
En la **fig. 15a (tolueno)** se observó que, en ratas expuestas a tolueno, en ausencia y presencia del endotelio, la acción de la fenilefrina sobre el músculo liso vascular muestra una tendencia a aumentar la respuesta contráctil a las concentraciones crecientes. Se observó un efecto significativo, siendo mayor el efecto de la respuesta contráctil en los anillos de aorta a los cuales se les quitó el endotelio, a las concentraciones de  $1 \times 10^{-7}$  M y  $1 \times 10^{-6.5}$  M,  $*p < 0.05$ ,  $n = 6$ .

En la **fig. 15b (con endotelio)** se observó que, al hacer la comparación entre los anillos aórticos de ratas control y ratas expuestas a tolueno que preservaron el endotelio, hay un aumento de la respuesta de contracción, siendo mayor en el tejido de aorta de las ratas control, sin ser estadísticamente significativo.

En la **fig. 15b (sin endotelio)** se observó que, al hacer la comparación entre los anillos aórticos de ratas control y ratas expuestas a tolueno en ausencia del endotelio, hay un aumento de la respuesta contráctil, siendo mayor en los anillos aórticos de las ratas control en comparación con los de las ratas expuestas a tolueno, obteniendo resultados estadísticamente significativos  $*p < 0.05$ .



Se observa que, al comparar los anillos aórticos, en ausencia y presencia del endotelio, hay una respuesta contráctil mayor en aquellos que no preservaron el endotelio. Esto se puede deber a que el endotelio sigue modulando la respuesta contráctil, y al removerlo se va a tener una respuesta directa sobre el músculo liso vascular.

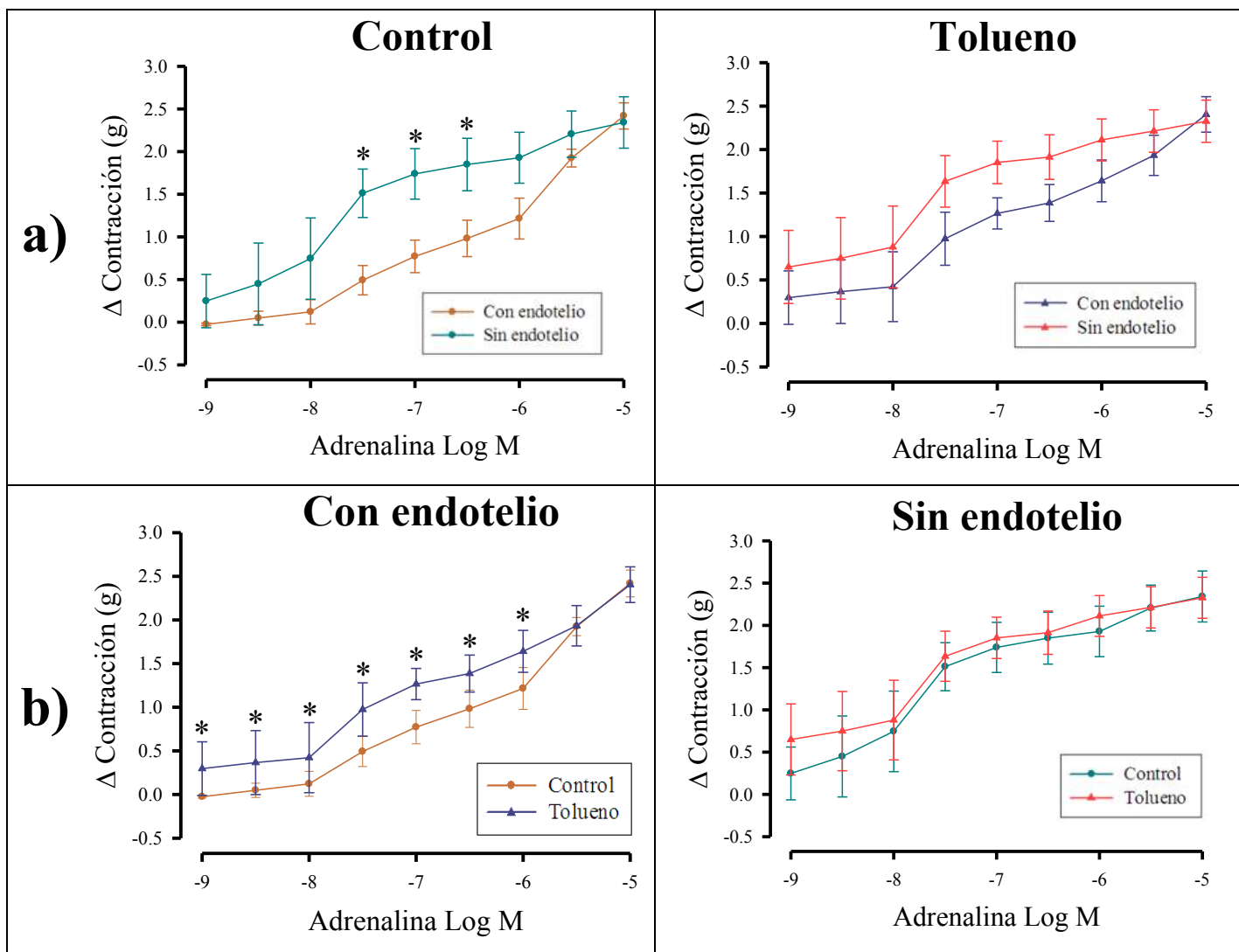


**Figura 15.** Curvas concentración-respuesta a fenilefrina en aortas preestimuladas con fenilefrina ( $1 \times 10^{-7}$  M) de animales control y animales expuestos a tolueno de manera subaguda, en ausencia y presencia del endotelio. En el panel a) se muestra la comparación entre el grupo control y tolueno, en ausencia y presencia de endotelio; en el panel b) se muestra la comparación entre los anillos de aorta con endotelio y sin endotelio de los grupos control y tolueno. Los datos se analizaron por medio de un análisis de varianza de dos vías (ANOVA) seguido de una prueba post hoc y se expresan como la media  $\pm$  e.e de  $n=6$ ,  $*$  =  $p < 0.05$  vs con endotelio o vs. control.



## 6.2 Curvas concentración-respuesta a la adrenalina

En la **fig. 16** se observó un aumento en el incremento de la contracción a concentraciones crecientes de adrenalina ( $1 \times 10^{-9}$  M a  $1 \times 10^{-5}$  M).



**Figura 16.** Curvas concentración-respuesta a adrenalina en aortas preestimuladas con fenilefrina ( $1 \times 10^{-7}$  M) de animales control y animales expuestos a tolueno de manera subaguda, en ausencia y presencia del endotelio. Los datos se analizaron por medio de un análisis de varianza de dos vías (ANOVA), seguido de una prueba pos hoc y se expresan como la media  $\pm$  e.e de  $n=6$ ,  $*$  =  $p < 0.05$ .

En la **fig. 16a (control)**, se observó que, en ausencia del endotelio, la acción de la adrenalina sobre el músculo liso vascular produce un aumento en la respuesta contráctil,



conforme se van agregando concentraciones crecientes. En las aortas de ratas control, en presencia del endotelio, se observó que hay un aumento de la respuesta contráctil, siendo estadísticamente significativas las diferencias en las concentraciones de  $1 \times 10^{-7.5}$  M a  $1 \times 10^{-6}$  M, con respecto a las aortas sin endotelio,  $*=p < 0.05$ ,  $n=5$ .

En la **fig. 16a (tolueno)**, se observó que, en ausencia del endotelio, la acción de la adrenalina sobre el músculo liso vascular produce un aumento en la respuesta contráctil al agregar concentraciones crecientes, siendo mayor el grado de contracción en estos anillos que en aquellos que conservaron el endotelio, sin observarse diferencias significativas.

En la **fig. 16b (con endotelio)**, se hace una comparación entre las aortas de ratas control y ratas expuestas a tolueno, las cuales permanecieron con el endotelio, y se observó que la respuesta de las aortas de ratas control tiene una menor fuerza de contracción en comparación con las aortas de ratas que fueron expuestas a tolueno, obteniendo resultados estadísticamente significativos,  $*=p < 0.05$ .

En la **fig. 16b (sin endotelio)**, se hace una comparación entre las aortas de ratas control y ratas expuestas a tolueno, a las cuales se les quitó el endotelio. Los resultados obtenidos son muy similares entre ambas, observándose un aumento en la respuesta contráctil, sin obtener diferencias estadísticamente significativas entre los grupos control y tolueno.

### 6.3 Curvas concentración-respuesta al isoproterenol

En la **fig. 17** se observó una disminución de la contracción a concentraciones crecientes de isoproterenol ( $1 \times 10^{-9}$  M -  $1 \times 10^{-5}$  M).

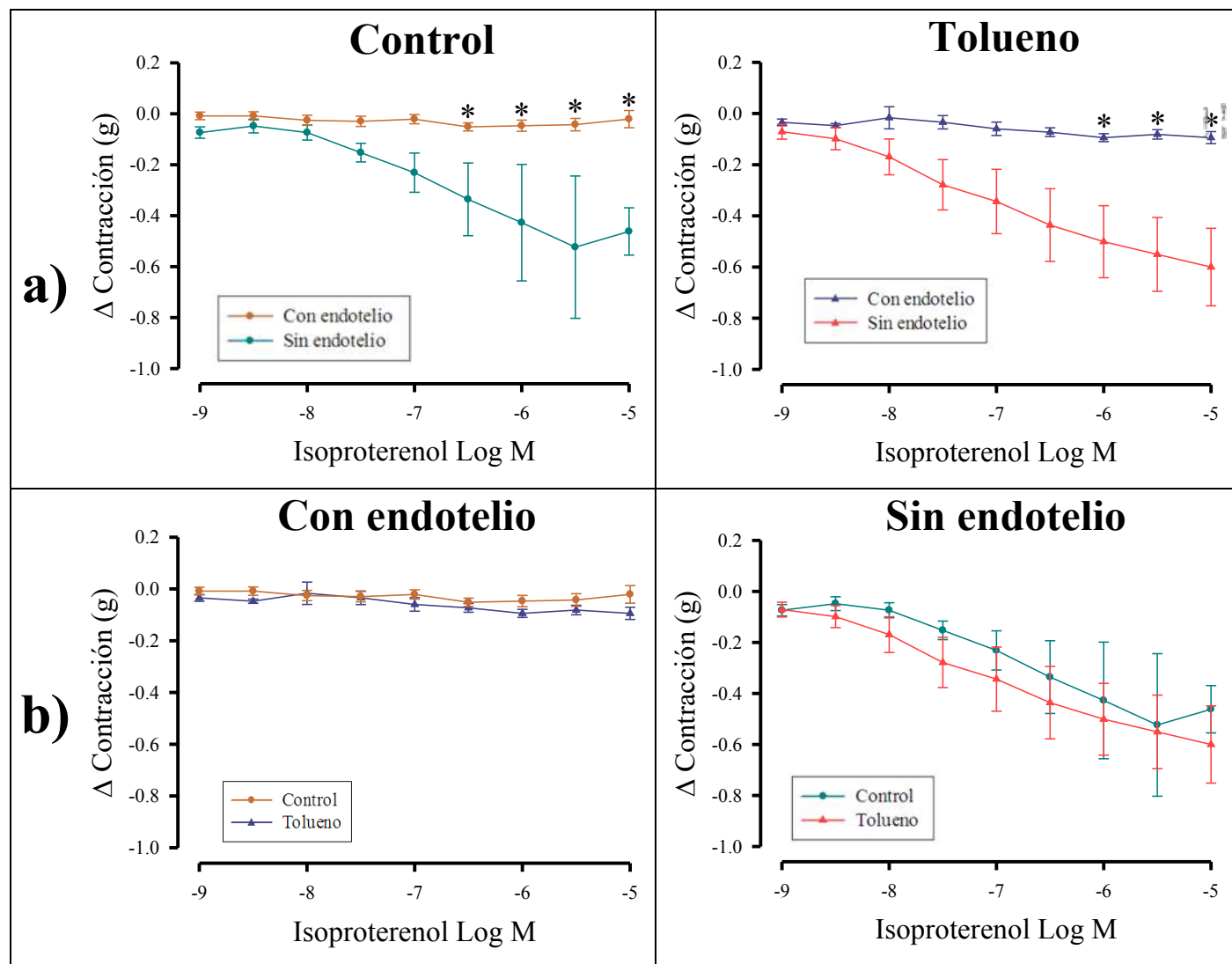
En la **fig. 17a (control)** se observó que en las aortas de ratas, en presencia y en ausencia de endotelio, en las primeras tres concentraciones actúan de una manera similar y que, al agregar concentraciones mayores de isoproterenol (a partir de  $1 \times 10^{-7.5}$  M), en las aortas en ausencia de endotelio, hay una disminución de la respuesta contráctil, mientras que en los anillos que sí conservaron el endotelio la respuesta es mínima, obteniendo diferencias significativas a partir de las concentraciones de  $1 \times 10^{-6.5}$  M a  $1 \times 10^{-5}$  M,  $*p < 0.05$ ,  $n=5$ .

En la **fig. 17a (tolueno)**, se observó que, en los anillos aórticos sin endotelio de ratas expuestas a tolueno, hay una disminución de la respuesta contráctil, mientras que en las aortas que sí conservaron el endotelio, la respuesta es apenas perceptible, observándose diferencias



significativas entre los grupos con y sin endotelio en las concentraciones de  $1 \times 10^{-6}$  M a  $1 \times 10^{-5}$  M,  $*p < 0.05$ ,  $n = 6$ .

En la **fig. 17b (con endotelio)**, se hace la comparación entre las aortas de ratas control y ratas que fueron expuestas a tolueno. Se observó que ambos grupos de aorta de ratas control y tolueno tienden a actuar de una manera similar, sin haber una disminución en la respuesta contráctil. No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas.



**Figura 17.** Curvas concentración-respuesta al isoproterenol en aortas preestimuladas con adrenalina ( $1 \times 10^{-7}$  M) de animales control y animales expuestos a tolueno de manera subaguda, en ausencia y presencia del endotelio. Los datos se analizaron por medio de un análisis de varianza de dos vías (ANOVA), seguido de una prueba de Tukey y se expresan como la media  $\pm$  e.e de  $n = 6$ ,  $* = p < 0.05$ .



En la **fig. 17b (sin endotelio)**, se hace la comparación entre las aortas de ratas control y ratas que fueron expuestas a tolueno, a las cuales se les quitó el endotelio, donde se observó que ambos tejidos aórticos se comportaron de manera similar, mostrándose una disminución de la respuesta contráctil, al aumentar las concentraciones de isoproterenol. Sin embargo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas.

## 6.4 Análisis de los efectos máximos

### 6.4.1 Fenilefrina

Al comparar los efectos máximos obtenidos en respuesta a la fenilefrina, se observó que, en el grupo de ratas control, expuestas sólo a aire, que preservaron el endotelio, se presentó un valor de  $1.39 \pm 0.15$  g, siendo estadísticamente significativo en comparación al grupo que se le removió el endotelio ( $*=p<0.05$ ); en cuanto a estos mismos grupos de ratas expuestas a tolueno, se observó que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con y sin endotelio (tabla 5).

**Tabla 5.** Efectos máximos en respuesta a la fenilefrina (expresados en gramos).

|                    | Con endotelio                                    |                 | Sin endotelio     |                 |
|--------------------|--|-----------------|-------------------|-----------------|
|                    | Control  | Tolueno         | Control           | Tolueno         |
| <b>Fenilefrina</b> | $1.39 \pm 0.14$                                  | $1.62 \pm 0.09$ | $2.48 \pm 0.15^*$ | $1.77 \pm 0.27$ |
|                    | <b>* <math>p&lt;0.05</math> vs con endotelio</b> |                 |                   |                 |

### 6.4.2 Adrenalina

Al comparar los efectos máximos obtenidos en respuesta a la adrenalina, se observó que no hubo diferencias significativas entre las aortas de ratas control y las ratas que fueron expuestas a tolueno, en ausencia y presencia del endotelio (tabla 6).

**Tabla 6.** Efectos máximos en respuesta a la adrenalina (expresados en gramos).

|                   | Con endotelio   |               | Sin endotelio   |                 |
|-------------------|-----------------|---------------|-----------------|-----------------|
|                   | Control         | Tolueno       | Control         | Tolueno         |
| <b>Adrenalina</b> | $2.41 \pm 0.15$ | $2.5 \pm 0.2$ | $2.34 \pm 0.30$ | $2.32 \pm 0.24$ |



### 6.4.3 *Isoproterenol*

Al comparar los efectos máximos en respuesta al isoproterenol, se observó que, en en aortas de ratas control, en ausencia del endotelio, se presentó un valor de  $-0.56 \pm 0.28$  g, en comparación con las aortas que conservaron el endotelio; mientras que en las aortas de ratas expuestas tolueno se observó que hubo diferencias estadísticamente significativas ( $*=p<0.05$ ) (tabla 7).

**Tabla 7.** Efectos máximos en respuesta a isoproterenol (expresados en gramos).

|  | Con endotelio    |                  | Sin endotelio      |                  |
|--|------------------|------------------|--------------------|------------------|
|  | Control          | Tolueno          | Control            | Tolueno          |
| <b>Isoproterenol</b>                             | $-0.02 \pm 0.03$ | $-0.08 \pm 0.02$ | $-0.56 \pm 0.28^*$ | $-0.48 \pm 0.16$ |
| <b>* <math>p&lt;0.05</math> vs con endotelio</b> |                  |                  |                    |                  |

## 6.5 Análisis de las concentraciones efectivas 50 (CE<sub>50</sub>)

### 6.5.1 *Fenilefrina*

Al comparar las CE<sub>50</sub> (mostradas como  $pD_2 = -\log CE_{50}$ ) obtenidas de las curvas concentración-respuesta a la fenilefrina, se observó que, en las aortas de ratas control, que conservaron el endotelio, se presentó un valor de  $6.82 \pm 0.23$ , en comparación con las aortas que no conservaron el endotelio ( $*=p<0.05$ ), observándose una diferencia estadísticamente significativa. En las aortas de ratas expuestas a tolueno, que conservaron el endotelio, se presentó un valor de  $6.53 \pm 0.21$ , mostrando diferencias estadísticamente significativas con las que no conservaron el endotelio.

**Tabla 8.** CE<sub>50</sub> expresadas como  $pD_2$ , en respuesta a la fenilefrina.

|  | Con endotelio   |                 | Sin endotelio     |                   |
|--|-----------------|-----------------|-------------------|-------------------|
|  | Control         | Tolueno         | Control           | Tolueno           |
| <b>Fenilefrina</b>                               | $6.82 \pm 0.23$ | $6.53 \pm 0.21$ | $7.49 \pm 0.15^*$ | $7.06 \pm 0.11^*$ |
| <b>* <math>p&lt;0.05</math> vs con endotelio</b> |                 |                 |                   |                   |



### 6.5.2 Adrenalina

Al comparar las  $CE_{50}$  (mostradas como  $pD_2 = -\log CE_{50}$ ) obtenidas de las curvas concentración-respuesta a la adrenalina, se observó que, en las aortas de ratas control, que conservaron el endotelio, se presentó un valor de  $5.86 \pm 0.18$ , en comparación con las aortas que no conservaron el endotelio ( $7.20 \pm 0.40$ ), mostrando diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con y sin endotelio. Por su parte, al comparar los anillos de aorta con y sin endotelio de animales expuestos a tolueno se observó que no se presentaron cambios significativos.

**Tabla 9.**  $CE_{50}$  expresadas como  $pD_2$ , en respuesta a la adrenalina.

|   | Con endotelio   |                 | Sin endotelio     |                 |
|---|-----------------|-----------------|-------------------|-----------------|
|   | Control         | Tolueno         | Control           | Tolueno         |
| <b>Adrenalina</b>                                   | $5.86 \pm 0.18$ | $6.80 \pm 0.34$ | $7.20 \pm 0.40^*$ | $7.52 \pm 0.10$ |
| <b>*= <math>p &lt; 0.05</math> vs con endotelio</b> |                 |                 |                   |                 |

### 6.5.3 Isoproterenol

Al comparar los grupos control y tolueno, con y sin endotelio, el análisis estadístico no arrojó diferencias estadísticamente significativas (datos no mostrados).



## VII DISCUSIÓN

El presente trabajo surgió a partir del interés de estudiar el efecto del tolueno sobre la reactividad vascular adrenérgica en aorta de ratas. Los resultados experimentales obtenidos en este estudio demuestran que, en ratas expuestas de forma subaguda al tolueno:

1. La ausencia del endotelio, en ratas control, provocó un aumento en el efecto máximo, en respuesta a la fenilefrina.
2. La ausencia del endotelio, en ratas control y ratas expuestas a tolueno, provocó una disminución en la  $CE_{50}$ , en respuesta a la fenilefrina.
3. En respuesta a la adrenalina se produce una disminución en la  $CE_{50}$ , en ratas control a las cuales se les removió el endotelio.

Hasta el momento no había informes del efecto de la exposición a tolueno sobre la reactividad vascular adrenérgica en ratas, sobre los receptores alfa y beta. Los hallazgos en nuestra investigación sugieren que el efecto del tolueno produjo una respuesta de disminución en la fuerza de contracción sobre los  $\alpha_1AR$  vasculares, cuando se estimuló con fenilefrina, y un aumento en la fuerza de contracción sobre los  $\alpha_1AR$  vasculares, cuando fueron estimulados con adrenalina, también hubo un aumento de los efectos máximos, en la aorta de ratas control, a las cuales se les removió el endotelio, en comparación a lo conservaron, y hubo un aumento de la  $CE_{50}$  tanto en el grupo control, como en el grupo expuesto a tolueno, en los anillos de aortas que conservaron el endotelio en comparación a los que se les removió. Al ser estimulados con adrenalina se observó un aumento en la fuerza de contracción, en la aorta de ratas expuestas a tolueno, que conservaron el endotelio; no hubo diferencias significativas entre los efectos máximos de aortas de ratas control y ratas expuestas a tolueno, en presencia y ausencia del endotelio; al hacer la comparación de  $CE_{50}$ , entre anillos aórticos de ratas control, en presencia y ausencia del endotelio, se observó una disminución en la respuesta en los anillos aórticos sin endotelio, siendo el efecto estadísticamente significativo. En respuesta al isoproterenol, que es un agonista de los receptores beta, no se observaron diferencias en las respuestas entre el grupo control y tolueno, lo cual puede ser debido a la estimulación de otros receptores presentes en el endotelio.



Se observó que nuestros resultados fueron dependientes del endotelio, lo que nos hace creer que estas respuestas pueden depender de algún factor presente en éste. Esta disminución de la fuerza de contracción de los  $\alpha_1$ -AR por acción del tolueno podría ser un mecanismo de acción que conlleva a la muerte súbita por inhalación. Nuestros resultados estuvieron sujetos a la participación del endotelio, ya que se observaron respuestas diferentes cuando éste se conservó y cuando se removió, al ser estimulado con fenilefrina y adrenalina, esto nos hace sugerir que los efectos del tolueno sobre los receptores adrenérgicos vasculares pueden ser dependientes del endotelio o de factores presentes en el mismo.

El abuso de tolueno, que actúa de manera similar en animales y humanos, puede tener efectos en el comportamiento y producir una depresión en la actividad neuronal. En nuestros experimentos, la exposición se hace durante 30 min, ya que tiempos superiores podrían ocasionar una acumulación de CO<sub>2</sub> en la cámara de exposición, lo que podría interferir con el efecto del tolueno; exponer a las ratas en la cámara de exposición es una manera simple y poco invasiva para exponer a las ratas a diferentes sustancias y concentraciones, ya que éstas sufren poco estrés ante la manipulación y eso se refleja en mejores resultados (Cruz *et al.*, 2003a).

Los inhalables han sido estudiados relativamente poco en comparación con otras drogas, esto es debido a que es un grupo de drogas ampliamente utilizadas en estratos sociales bajos y por lo tanto existe poca evidencia al respecto. Se sabe que el abuso del tolueno está ampliamente relacionado con la muerte súbita por inhalación, este fenómeno es poco comprendido y estudiado por los profesionales de la salud, ya que los mecanismos involucrados no se conocen en su totalidad, lo que lo convierte en un problema de salud pública a nivel mundial (Cruz & Bowen, 2021).

Esta tesis surge a partir de la investigación, que se llevó a cabo en nuestro laboratorio, por Carreón-Garcidueñas *et al.* (2018), donde se observó que, en ratas que fueron expuestas de forma aguda, durante 30 min, a tolueno (6000 ppm), a las cuales se les aisló el corazón mediante la preparación de Langendorff, hubo un aumento de la densidad de los  $\beta$ -AR y una disminución en la expresión de los canales de Na<sup>+</sup> y de Ca<sup>2+</sup>; además, aumentó la frecuencia cardíaca, posiblemente debido a una sensibilización a la adrenalina; y hubo un efecto vasoconstrictor, probablemente debido a una sobreestimulación adrenérgica, lo que ocasionó un aumento en la presión de perfusión y una elevación de la fuerza de contracción ventricular.



En este sentido, Cruz *et al.* (2003b) observaron que, en ovocitos de rana *Xenopus laevis*, el tolueno (300  $\mu\text{M}$ ) inhibe las corrientes de  $\text{Na}^+$  a través de los canales de sodio cardiacos humanos ( $\text{Na}_v1.5$ ) de manera reversible y completa; y que la reactivación de la inactivación de la corriente fue más lenta, con una  $\text{IC}_{50}$  de 254  $\mu\text{M}$ , ya que los canales necesitaban más tiempo para recuperarse después de la despolarización. También el bloqueo de los canales fue dependiente del uso del canal y de la frecuencia de estimulación y en los canales en reposo se produjo un bloqueo parcial de la corriente de sodio. Estos resultados sugieren que el tolueno se une a los canales de  $\text{Na}^+$  cardiacos cuando estos se encuentran en un estado abierto y se desliga cuando los canales se mueven de un estado inactivo a uno cerrado, lo que puede producir un efecto arritmogénico. Estos datos concuerdan con los de Gauthereau *et al.* (2005) donde se observó que el tolueno (3 mM) inhibe los canales de sodio del músculo esquelético, con y sin subunidad  $\beta_1$  ( $\text{Na}_v1.4+\beta_1$  y  $\text{Na}_v1.4-\beta_1$ ), expresados en ovocitos de rana *Xenopus laevis*, de manera dependiente de la concentración y de la frecuencia de uso. Este efecto fue más significativo en  $\text{Na}_v1.4-\beta_1$ , con un valor de  $\text{IC}_{50}$  de 2.2 mM, mientras que el valor de  $\text{IC}_{50}$  en los  $\text{Na}_v1.4+\beta_1$  fue de 2.7 mM, aunque estas diferencias no son estadísticamente significativas. Los  $\text{Na}_v1.4$  se compararon con los canales mutantes F1579A, que carecen de un sitio de unión a anestésicos locales, en los cuales se observó que el efecto del tolueno disminuye drásticamente. Esta investigación sugirió que la subunidad  $\beta_1$  no tiene un papel importante en los efectos inhibitorios del tolueno y se observó que la inhibición del tolueno fue 10 veces menos sensible que en los canales  $\text{Na}_v1.5$ .

En un estudio realizado por Mohl *et al.* (2011), observaron que una estimulación de los  $\alpha_1$ -AR cardiacos mejora la contractibilidad y ocasiona una pequeña, pero significativa, entrada de  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ; la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  a través de la vía de señalización de los  $\alpha_1$ -AR tiene un papel importante en la regulación de la contractilidad cardíaca, lo que puede ocasionar un paro cardiaco fulminante. Adicionalmente, en experimentos realizados por Rodríguez *et al.* (2020), se observó que hubo un aumento de la expresión de los  $\alpha_{1D}$ -AR en tejido de músculo liso cardiaco, en ratas que presentaban hipertensión espontánea, y que esto indicaba una disfunción diastólica, mostrando un papel importante de los  $\alpha_{1D}$ -AR en la función cardiaca y su estructura.



Desde de los años sesenta se incrementó el interés en el estudio de los inhalables, debido a que se observó un aumento en el consumo de sustancias, como el tolueno, benceno, xileno, etc., y una relación con anomalías en el funcionamiento cardíaco (Glaser y Massengale, 1962). A partir de eso se han tratado de dilucidar los mecanismos de acción involucrados en el fenómeno de muerte súbita por inhalación. En estudios anteriores se ha reportado la importancia de los efectos del tolueno, Bass (1970) reportó que, en 110 casos clínicos de muerte súbita por inhalación, ésta había ocurrido después de realizarse algún tipo de ejercicio o alguna situación de estrés. Observó que había un intervalo de tiempo entre la inhalación, donde los consumidores se precipitaban repentinamente a una distancia corta y posteriormente se presentaba la muerte; sin embargo, en la necropsia no se encontraron anomalías que pudieran explicar el colapso. Partiendo de esta investigación, Taylor y Harris (1970) investigaron los efectos electrocardiográficos de la inhalación de pegamento en ratones, o bien cemento epóxico que contenía tolueno y observaron que la frecuencia cardíaca sinoauricular disminuyó de  $462 \pm 9.9$  a  $416 \pm 17.3$  latidos por minuto y que el intervalo P-R se alargó ligeramente; durante un periodo de asfixia, en los ratones control, la frecuencia cardíaca sinoauricular aumentó  $72 \pm 7.6$  latidos por minuto y el intervalo P-R no se alargó, en contraste, con los ratones que fueron expuestos al pegamento, la frecuencia cardíaca sinoauricular disminuyó a  $57 \pm 18.9$  latidos por minuto y el intervalo P-R se alargó.

Adicionalmente, Magos *et al.* (1990) observaron que, al exponer ratas a tolueno (0.20 y 0.40 ml) y benceno (0.10 y 0.20 ml), el tolueno produjo una disminución en la actividad ventricular ectópica, ocasionada por una ligadura de la arteria coronaria o por la administración de aconitina, mientras que el benceno aumentó la frecuencia cardíaca, cuando había una ligadura coronaria; con la administración de aconitina se produjo arritmia y fibrilación ventricular. Este estudio sugiere que el tolueno, en contraste con el benceno, no aumenta la incidencia de las extrasístoles ventriculares inducidas por la adrenalina, al contrario, parece disminuirla. En una investigación realizada por Taş *et al.* (2013) observaron los efectos cardiotóxicos de dosis altas de tolueno y los mecanismos de daño en el tejido cardíaco de ratas en un periodo agudo. Utilizaron ratas Wistar, a las cuales se les administró 6 mL/kg de tolueno, encontrándose que la presión sanguínea fue menor en las ratas control que en las tratadas con tolueno,  $66 \pm 85$  y  $82 \pm 10$  mmHg, respectivamente; la frecuencia cardíaca mostró valores en ratas control de  $198 \pm 21$  y las ratas expuestas a tolueno de  $179 \pm$



31 latidos por minuto, estos valores fueron medidos a los 30, 60 y 90 min después de la administración de tolueno; las muestras sanguíneas mostraron que los valores de troponina T (TnT) aumentaron en ratas que fueron administradas con tolueno; los descubrimientos histopatológicos del tejido cardíaco mostraron edema y congestión; el ensayo TUNEL (marcado de final de corte de dUTP de Terminal deoxinucleotidil transferasa), que es un estudio utilizado para detectar las células apoptóticas que sufren una amplia degradación del DNA durante las últimas etapas de la apoptosis, mostró un mayor número de células apoptóticas; y en el estudio de inmunohistoquímica se demostró una alta inmunoreactividad de la proteína caspasa-3. En este estudio observaron que a dosis altas de tolueno se puede ocasionar apoptosis y se puede provocar un deterioro de la función cardíaca.

Se han reportado casos clínicos donde las condiciones de trabajo ocasionan intoxicaciones con compuestos orgánicos volátiles que resultan en cardiotoxicidad; por otro lado, también existen reportes de consumidores de inhalables que ingresan al departamento de emergencias, por paros cardíacos (Ciešlik-Guerra *et al.*, 2015; Guzmán *et al.*, 2020).

Guo (2015) en un caso clínico reportó que una mujer de 38 años consumidora habitual de los inhalables, llegó al departamento de emergencias por un paro cardíaco, en su ECG se mostraba una taquicardia sinusal, sin un intervalo QTc alargado y una frecuencia cardíaca de 130 latidos por minuto; días posteriores al ingreso del hospital la mujer muere. Ciešlik-Guerra *et al.* (2015) reportaron un caso clínico de un hombre de 65 años que ingresó al departamento de urgencias, debido a una ingestión accidental de disolventes orgánicos (xileno y tolueno), previamente había sido diagnosticado con hipertensión arterial y angina de Prinzmetal. La examinación médica mostró una presión sanguínea de 140/80 mmHg y una frecuencia cardíaca de 80 latidos por minuto, el ECG mostró una onda T negativa en el ventrículo izquierdo y las pruebas sanguíneas revelaron el valor de la creatina cinasa MB (CK-MB), presente en el músculo cardíaco, de 20.89 ng/ml (valor de referencia: 0-0.76 ng/ml) y la troponina T altamente sensible (Trop T<sub>hs</sub>) de 0.238 ng/ml (valor de referencia: <0.1 ng/ml). Estos resultados son similares a los mostrados por Vural & Ogel (2006), donde reportaron una cardiomiopatía dilatada asociada al abuso del tolueno, en un paciente masculino de 21 años de edad, consumidor de tolueno durante 10 años. El examen médico mostró la presión sanguínea de 110/60 mmHg y una frecuencia cardíaca irregular con un valor de 55 latidos por minuto; en el ECG se observaron extrasístoles ventriculares



bigeminadas y bloqueo incompleto de rama derecha. El examen ecocardiográfico mostró que los diámetros diastólicos y sistólicos del ventrículo izquierdo eran de 6.2 y 4.6 cm, respectivamente; la pared posterior y el tabique interauricular tenían un grosor de 0.75 cm, la válvula mitral estaba ligeramente regurgitada, el ventrículo izquierdo era hipocinético y su fracción de eyección era del 40%.

Acorde con la literatura, esta investigación encontró que los efectos de tolueno pueden ocasionar efectos tóxicos sobre el sistema cardiovascular, por mecanismos aún desconocidos; nuestros resultados sugieren que el tolueno puede afectar a los  $\alpha_1$ -AR y  $\beta$ -AR, provocado por una sensibilización a catecolaminas, lo que puede desencadenar en una muerte súbita. Se sabe que un aumento de la expresión de los  $\alpha_{1D}$ -AR puede afectar la función cardíaca, esto es consistente con nuestros datos obtenidos, ya que se observó que el tolueno puede modificar el funcionamiento de los  $\alpha_1$ -AR. En este mismo sentido, el tolueno afecta las corrientes de  $Ca^{2+}$  activadas por voltaje, que un aumento en la entrada de  $Ca^{2+}$  a través de la señalización de los  $\alpha_1$ -AR puede afectar la contractibilidad cardíaca.

Como se mencionó en la revisión de la literatura, se sabe que el tolueno puede actuar sobre diferentes receptores, afectando el funcionamiento de los receptores NMDA, receptores GABA, receptores de glicina y receptores de serotonina (5-HT) (Cruz *et al.*, 1998; Beckstead *et al.*, 2000; Lopreato *et al.*, 2003). En concordancia con esto, en estudios conductuales en animales se sugiere que el etanol inhibe los receptores NMDA. En un estudio realizado por Cruz *et al.* (1998) se observó que, por medio de la técnica de fijación de voltaje, el tolueno, actuando como un antagonista no competitivo, inhibe las corrientes iónicas inducidas por la activación de los receptores NMDA recombinantes, en ovocitos de rana *Xenopus laevis*, de manera dependiente de la concentración, con un valor de  $IC_{50}$  de 0.17 mM; esta inhibición fue rápida, reversible y dependiente de la subunidad del receptor, siendo más sensible la combinación NR1/2B; mientras que los receptores NR1/2A y NR1/2C fueron de 6 a 12 veces menos sensibles, con un valor de  $IC_{50}$  de 1.4 y 2.1 mM, respectivamente. En lo que respecta a los receptores GluR1, GluR1+R2 o la subunidad GluR6, el tolueno no inhibió las corrientes inducidas por el kainato, a concentraciones de hasta ~9 mM. Estos resultados concuerdan en gran parte con el trabajo realizado por Cruz *et al.* (2003), donde se observó que, en ratones expuestos a tolueno (750 - 6000 ppm) y 1,1,1-tricloroetano (TCE,



8000 - 12000 ppm), el tolueno generó un efecto protector para convulsiones producidas por NMDA (60 – 170 mg/kg), con una  $IC_{50}$  de 739 ppm; también se observó que el tolueno redujo la letalidad producida por altas dosis de NMDA (170 mg/kg), con una  $IC_{50}$  de 2127 ppm y 3861 ppm. Este hallazgo apoya ampliamente el trabajo realizado por Wood *et al.* (1984), en el cual se analizó el efecto anticonvulsivante del tolueno en ratones, y se observó que éste retrasaba la muerte inducida por pentilentetrazol (PTZ), a dosis de 110 y 200 mg/kg, de una manera dependiente de la concentración. También se reportó que el pretratamiento con tolueno (200-400 mg/kg, i.p.) retrasaba la aparición de signos convulsivos y prevenía la presentación de la fase de extensión tónica de una manera dependiente de la dosis.

En este mismo sentido, en el estudio realizado por Smothers & Woodward (2016) se observó el efecto de las mutaciones de triptófano TM4 sobre la inhibición por etanol (100 mM) y tolueno (1 o 3 mM), de los receptores NMDA recombinantes expresados en células HEK293, y que éstas se van a ver afectadas de manera dependiente de la subunidad y de la mutación. La actividad del canal en los receptores NMDA en neuronas y sistemas de expresión recombinantes es inhibida por el etanol y por compuestos representativos de los inhalables, como el tolueno. Los resultados mostraron que, al comparar los receptores “wild-type” y los mutados, el alcohol presentó una inhibición de estos, mientras que el tolueno no los inhibió.

Estos datos son consistentes con los de Williams *et al.* (2004), quienes observaron los efectos de la exposición repetida a tolueno (8000 ppm), en ratas, en el nivel de expresión de la subunidad  $\alpha_1$  de los receptores  $GABA_A$ ; en los niveles de las subunidades NR1 y NR2B del receptor NMDA; y en los niveles de las subunidades GluR2/3 del receptor AMPA. En la corteza prefrontal medial y en la región del estriado dorsolateral se observó un aumento en los niveles de la subunidad  $\alpha_1$  del receptor  $GABA_A$ ; en el núcleo accumbens hubo un ligero aumento de los receptores NR2B; en el área ventral tegmental, la exposición dio lugar a una disminución menor de los niveles de la subunidad  $\alpha_1$  del receptor  $GABA_A$ ; y, por último, en la sustancia negra compacta hubo una disminución de la subunidad  $\alpha_1$  del receptor  $GABA_A$  y de la NR1 del receptor NMDA; esto sugiere que el tolueno puede tener efectos que involucran el funcionamiento de los receptores ionotrópicos  $GABA_A$  y de glutamato.

En un estudio realizado por Bale *et al.* (2002) se observó que el tolueno, en concentraciones de 50  $\mu$ M a 10  $\mu$ M, produce una inhibición en las corrientes inducidas por



la acetilcolina, en varios subtipos de los receptores nicotínicos expresados en ovocitos de *Xenopus* y en cultivos de neuronas hipocámpales, de manera reversible y dependiente de la concentración; siendo las combinaciones de subunidades  $\alpha 4\beta 2$  y  $\alpha 4\beta 3$  más sensibles a la inhibición, que las combinaciones  $\alpha 4\beta 4$ ,  $\alpha 3\beta 2$  y los receptores  $\alpha 7$ ; y esto puede representar un importante sitio de acción de algunos efectos neuroconductuales del tolueno.

Lopreato *et al.* (2003) estudiaron el efecto de los inhalables: TCE (490  $\mu\text{M}$ ), tricloroetileno (TCY; 390  $\mu\text{M}$ ), y tolueno (330  $\mu\text{M}$ ), sobre el aumento de la función de los receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>3</sub>; donde observaron que potenciaron de forma significativa, de manera reversible y dependiente de la dosis, las corrientes activadas por la serotonina mediadas por el 5-HT<sub>3A</sub>-R de ratón expresado en ovocitos de *Xenopus*, que habían sido previamente incubados en solución salina de Barth modificada (MSB) libre de Ca<sup>2+</sup> durante 20 s, seguida de una pre incubación con el disolvente por 60 s, antes de la aplicación conjunta de 5-HT y el disolvente por 90 s.

Estas investigaciones pueden apoyar la hipótesis de que el tolueno afecta el funcionamiento de los receptores adrenérgicos  $\alpha_1$  y  $\beta$ , ya que con los resultados que se obtuvieron en estos estudios se puede observar que el tolueno afecta el funcionamiento de varios receptores ionotrópicos. Aunque no existe evidencia que indique que el tolueno pueda actuar directamente sobre receptores acoplados a proteínas G, se sabe que las formas activas de las proteínas G pueden modular de manera positiva o negativa diferentes canales iónicos, que son blancos moleculares que se ha visto que pueden ser afectados por el tolueno.

Varios estudios han reportado que el tolueno actúa de manera similar al alcohol y otros depresores del SNC, en cuanto a efectos conductuales. En 1979, Morvai & Ungváry estudiaron el efecto simultáneo del tolueno y del alcohol en el sistema cardiovascular de ratas, que fueron alimentadas con dieta líquida que contenía un 36% del total de calorías ingeridas en forma de alcohol etílico, después, a la mitad de estas ratas, se les ponía dentro de una cámara de exposición y se les administraba 4000 mg/m<sup>3</sup> de tolueno, durante 6 horas, cinco días, durante 4 semanas. Se observó que, en las ratas tratadas con la combinación de alcohol/tolueno, los ECG no mostraban cambios significativos, en comparación con los grupos sólo alimentados con alcohol; la presión sanguínea y el índice cardiaco disminuyó en ambos grupos; se observó una interacción inhibitoria significativa en los efectos simultáneos



del tolueno y el alcohol sobre el peso del corazón; y la resistencia vascular aumentó en el miocardio. Estos efectos fueron considerablemente mayores en los grupos que sólo ingirieron alcohol, en comparación a los que tuvieron la exposición a tolueno. Este estudio concluyó que los sitios cardiovasculares de acción del alcohol y del tolueno no son idénticos.

Por otro lado, en un estudio realizado por Eby y Majetschak (2019) se estudiaron los efectos del etanol y sus metabolitos en la función intrínseca de las arterias mesentéricas de resistencia; el etanol aumentó de manera dependiente de la dosis la potencia de la fenilefrina para inducir una vasoconstricción; a una concentración de 17.4 mM no altera la respuesta, pero una preincubación, durante 30 min, de etanol a concentraciones de 50 mM y 100 mM, provocó un aumento en la fuerza de vasoconstricción en respuesta a la fenilefrina, también redujo de manera dependiente de la dosis la  $EC_{50}$  para los efectos vasoconstrictores de la arginina vasopresina; el acetaldehído o el fosfatidiletanol por sí solos no indujeron a una vasoconstricción, pero al pre-incubar las arterias con acetaldehído se provocó un aumento de la fuerza de vasoconstricción inducida por la fenilefrina. Estos hallazgos demostraron que el etanol y el acetaldehído sensibilizan selectivamente las respuestas intrínsecas de las arterias mesentéricas de resistencia tras la activación de los receptores adrenérgicos vasculares alfa 1 y/o de vasopresina.

Por otra parte, en un estudio realizado por Tirapelli *et al.* (2007) observaron que, en ratas tratadas con 20% de etanol en su ingesta calórica, durante 2 y 6 semanas, el efecto máximo ( $E_{m\acute{a}x}$ ) de la curva de concentración-respuesta a fenilefrina, en anillos aórticos, que conservaron el endotelio, fue mayor en ratas tratadas con etanol, que en aquellas aortas a las que se les quitó el endotelio; además, se observó un aumento significativo en los valores del  $E_{m\acute{a}x}$  y el  $pD_2$ . Se concluyó que el etanol afecta la reactividad de los vasos sanguíneos. Esto concuerda con el estudio realizado por el mismo laboratorio de Tirapelli *et al.* (2006) quienes demostraron que, en ratas que fueron alimentadas con 20% de etanol en el agua durante 2, 6 y 10 semanas, el consumo crónico de etanol produjo una mayor capacidad de respuesta a la fenilefrina en la aorta de rata, sustentando la noción de que el consumo de etanol altera la respuesta vascular; esta respuesta también se observó en aortas sin endotelio, corroborando que el aumento de la sensibilidad a los agonistas adrenérgicos no depende de la presencia de endotelio en la aorta de rata; para observar la posibilidad de que el endotelio mejore la



reactividad, se incubaron los anillos aórticos con L-NAME (inhibidor de la sintasa de óxido nítrico), encontrándose que la contracción aumentó significativamente cuando se estimularon con fenilefrina; en relación con el aumento de  $[Ca^{2+}]_i$ , la contracción inducida por la fenilefrina fue mayor en las aortas de ratas tratadas con etanol.

Hasta la fecha, se ha encontrado poca evidencia que asocie los efectos del tolueno con los efectos del etanol en el sistema cardiovascular. Sin embargo, los resultados obtenidos por Tirapelli y col. demuestran que este hallazgo, aunque preliminar, sugiere que existen similitudes con respecto a la fuerza de contracción ventricular en respuesta a la fenilefrina, ya que, en comparación con nuestros resultados, se pudo observar que hay un aumento en la respuesta de fuerza de contracción. Esto puede ayudarnos a comprender un poco más los mecanismos involucrados en la muerte súbita por inhalación y los efectos del tolueno en el sistema cardiovascular.

Se sabe que otras drogas como la cocaína, las anfetaminas y sus derivados, las catinonas (sales de baño) y el cannabis y sus derivados sintéticos ejercen efectos sobre el sistema cardiovascular y se han relacionado con muertes súbitas. El efecto de la cocaína en el corazón es complejo, se sabe que hay un aumento de la actividad en el miocardio, actuando como un potente simpaticomimético que provoca vasoconstricción, aumento en la frecuencia cardíaca y una elevación de la presión sanguínea; debido a esto se puede producir disfunción endotelial, vasoconstricción difusa, espasmo de las arterias coronarias y trombosis; se ha mostrado que tiene un efecto inotrópico negativo en el músculo cardíaco; puede inducir a arritmias, ocasionando un bloqueo de los canales de  $Na^+$  y eso puede afectar la repolarización, también se ha asociado con disección aórtica, posiblemente debida a un efecto directo sobre la presión arterial sistémica. Los efectos de las catinonas incluyen un aumento de la frecuencia cardíaca e hipertensión. Se ha reportado que las anfetaminas inducen a insuficiencia cardíaca aguda y que ésta puede ser ocasionada por una producción de taquiarritmias, como la fibrilación ventricular. Los derivados de los cannabinoides sintéticos se han relacionado con arritmias cardíacas, infarto de miocardio, anomalías en el segmento ST y convulsiones (Goddard, 2019).

Al investigar acerca de los efectos del consumo del tolueno y las similitudes que pueden existir con los efectos de otro tipo de drogas, como el etanol y los depresores del



SNC, que pueden ocasionar una muerte súbita, es sorprendente que se encontrara poca investigación con respecto de esta condición, ya que la mayoría de drogas, legales e ilegales, son más estudiadas en efectos conductuales, dejando una gran incógnita respecto a los mecanismos de acción en el sistema cardiovascular. Es importante recalcar que hacen falta más estudios para poder comprender el efecto del tolueno sobre otros órganos y tejidos.

La fenilefrina es un agonista selectivo de los receptores alfa 1, activa los receptores beta sólo a concentraciones mucho más altas; este agonista causa una marcada vasoconstricción arterial. En varios estudios se ha observado que la fenilefrina genera respuestas dependientes de la concentración; actuando como un vasoconstrictor en  $\alpha_{1D}$ -AR y como vasorrelajante en  $\alpha_2$ -AR, en diferentes tejidos como la aorta, el lecho arterial intrínseco mesentérico, la arteria femoral, arteriolas. La adrenalina, que es un potente agonista de los receptores adrenérgicos alfa y beta, es uno de los medicamentos vasopresores más potentes conocido; la adrenalina tiene un efecto vasorrelajante sobre los  $\beta$ -AR y vasoconstrictor sobre los  $\alpha_{1D}$ -AR; se sabe que sus metabolitos, normetaadrenalina y metadrenalina, tienen un efecto vasoconstrictor sobre los  $\alpha_1$ -AR similar a los de la fenilefrina. El isoproterenol es un potente agonista del receptor beta adrenérgico no selectivo, con muy baja afinidad para los receptores alfa; relaja casi todas las variedades de músculos lisos. En varios estudios realizados se ha demostrado que el isoproterenol aumenta el ritmo cardiaco (Buckner *et al.*, 1996; de Lucia *et al.*, 2014; Mishra *et al.*, 2018; Raj & Subramani, 2016; Wallukat, 2002; Westfall *et al.*, 2013; Yamaki *et al.*, 2020). Esto nos hace sugerir que, en nuestro estudio, una activación de los diferentes receptores adrenérgicos produce efectos sobre la respuesta vascular, ya que en anillos de ratas que estuvieron expuestas al tolueno se observó un aumento de la fuerza de contracción en comparación con las ratas control.

Las células endoteliales controlan el tono del músculo liso vascular subyacente, liberando factores relajantes y factores de contracción derivados del endotelio. La vasoconstricción producida por agonistas adrenérgicos de los receptores alfa 1 y alfa 2, aumenta cuando el endotelio es removido de los vasos sanguíneos (Vanhoutte, 2001).



No existe información al respecto del abuso del tolueno y la interacción con los receptores de angiotensina, y éste podría ser otro blanco molecular de acción para explicar el posible mecanismo de la muerte súbita por inhalación. En varios modelos animales, se ha asociado la hipertensión con un aumento de la señalización de los  $\alpha_{1D}$ -AR; su activación aumenta la síntesis de proteínas y el crecimiento de la pared vascular (Akinaga *et al.*, 2019). Esto concuerda con el estudio realizado por Gallardo-Ortiz *et al.* (2015), donde se observó el efecto *in vivo*, de la infusión continua de angiotensina II (Ang II) en la presión arterial, la hipertrofia vascular y la expresión de los  $\alpha_1$ -AR, donde se demostró que un aumento en la densidad de los  $\alpha_{1D}$ -AR puede ser debido a la acción de la Ang II en células vasculares del músculo liso en cultivo y que la Ang II aumenta la inflamación vascular, promueve la disfunción endotelial y la remodelación estructural.

Varias preguntas siguen sin respuesta en la actualidad con respecto al consumo del tolueno, que como ya se sabe puede afectar el funcionamiento, quizás de manera indirecta, de los receptores acoplados a proteína G. Este trabajo da lugar a que se abran nuevas oportunidades de investigación para dilucidar los mecanismos involucrados con la muerte súbita por inhalación.

## VIII CONCLUSIÓN

Este proyecto es la primera investigación de cómo el tolueno afecta la reactividad adrenérgica vascular en aorta de rata. Los resultados muestran que el tolueno modifica el funcionamiento de los receptores  $\alpha_1$ , y que esto puede ser en función del endotelio o dependiente de factores presentes en él, aumentando la fuerza de contracción vascular, al ser estimulados con fenilefrina y adrenalina. No obstante, se necesitan más estudios para dilucidar por completo este punto.



## IX REFERENCIAS

- A. Neto, M., Rascado, R. R. ., & Bendhack, L. M. (2006). Receptores beta-Adrenérgicos no Sistema Cardiovascular. *Medicina (Ribeirao Preto. Online)*, 39(1), 3–12. <https://doi.org/10.11606/issn.2176-7262.v39i1p3-12>
- Akinaga, J., García-Sáinz, J., & Pupo, A. S. (2019). *Updates in the function and regulation of  $\alpha$  1-adrenoceptors*. <https://doi.org/10.1111/bph.v176.14/issuetoc>
- Alcántara-Hernández, R., & Hernández-Méndez, A. (2018). Complejos moleculares de la señalización adrenérgica. *Gaceta Medica de Mexico*, 154(2), 223–235. <https://doi.org/10.24875/GMM.18002390>
- Alcocer, J., López-Gatell, H., Zabicky, G., González, J., Torres, C., Mendoza, J., Robles, N., Rubio, A., Bautista, A., Barrón, E., Tapia, E & Videgaray, D. (2021) Informe sobre la Situación de la Salud Mental y el Consumo de Sustancias Psicoactivas en México. *Observatorio Mexicano de Salud Mental y Consumo de sustancias Psicoactivas*. Disponible en : [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/648021/INFORME\\_PAIS\\_2021.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/648021/INFORME_PAIS_2021.pdf)
- Alper, A. T., Akyol, A., Hasdemir, H., Nurkalem, Z., Güler, Ö., Güvenç, T. S., Erdinler, I., Çakmak, N., Eksik, A., & Gürkan, K. (2008). Glue (Toluene) Abuse: Increased QT Dispersion and Relation with Unexplained Syncope. *Inhalation Toxicology*, 20(1), 37–41. <https://doi.org/10.1080/08958370701758304>
- Anderson, C. E., & Loomis, G. A. (2003). Recognition and Prevention of Inhalant Abuse. *American Family Physician*, 68(5), 869–874.
- ATSDR. (2002). Toxicological Profile for Toluene. *ATSDR's Toxicological Profiles*, June. [https://doi.org/10.1201/9781420061888\\_ch153](https://doi.org/10.1201/9781420061888_ch153)
- Bale, A. S., Tu, Y., Carpenter-Hyland, E. P., Chandler, L. J., & Woodward, J. J. (2005). Alterations in glutamatergic and gabaergic ion channel activity in hippocampal neurons following exposure to the abused inhalant toluene. *Neuroscience*, 130(1), 197–206. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.08.040>
- Bale, Ambuja S., Smothers, C. T., & Woodward, J. J. (2002). Inhibition of neuronal nicotinic acetylcholine receptors by the abused solvent, toluene. *British Journal of Pharmacology*, 137(3), 375–383. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704874>
- 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>
- Bass, M. (1970). Sudden Sniffing Death. *The Journal of the American Medical Association*, 212,



- 2075–2079. <https://doi.org/10.1001/jama.1970.03170250031004>
- Beckstead MJ, Weiner JL, Eger EI, Gong DH, Mihic SJ. 2000. Glycine and  $\gamma$ -aminobutyric acid (A) receptor function is enhanced by inhaled drugs of abuse. *Molecular Pharmacology*. 57(6):1199–1205. PMID:10825391
- Bowen, S. E., Batis, J. C., Paez-Martinez, N., & Cruz, S. L. (2006). The last decade of solvent research in animal models of abuse: Mechanistic and behavioral studies. *Neurotoxicology and Teratology*, 28(6), 636–647. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2006.09.005>
- 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  $\alpha$ 1B subtype. In *European Journal of Pharmacology* (Vol. 297). ELSEVIER.
- Cámara-Lemarroy, C. R., González-Moreno, E. I., Rodríguez-Gutiérrez, R., & González-González, J. G. (2012). Clinical presentation and management in acute toluene intoxication: A case series. *Inhalation Toxicology*, 24(7), 434–438. <https://doi.org/10.3109/08958378.2012.684364>
- Capote, L. A., Mendez Perez, R., & Lymperopoulos, A. (2015). GPCR signaling and cardiac function. *European Journal of Pharmacology*, 763, 143–148. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.05.019>
- 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>
- Ciešlik-Guerra, U. I., Rechciński, T., Trzos, E., Wierzbowska-Drabik, K., Uznańska-Loch, B., Winnicka, R., Krakowiak, A., Kasprzak, J. D., Fröhlich, C., & Kurpesa, M. (2015). Cardiotoxic effect due to accidental ingestion of an organic solvent. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 28(1), 174–179. <https://doi.org/10.13075/ijomeh.1896.00257>
- Clements, M., Banes, A., & Faber, J. (1997). Effect of Mechanical Loading on Vascular  $\alpha$ 1D and  $\alpha$ 1B-Adrenergic Receptor Expression. *Hypertension*, 29(5), 1156–1164. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.29.5.1156>
- Cosnier, F., Nunge, H., Brochard, C., Burgart, M., Rémy, A., Décret, M. J., Cossec, B., & Campo, P. (2014). Impact of coexposure on toluene biomarkers in rats. *Xenobiotica*, 44(3), 217–228. <https://doi.org/10.3109/00498254.2013.830204>
- Cotecchia, S., Stanasila, L., & Diviani, D. (2012). Protein-Protein Interactions at the Adrenergic Receptors. In *Current Drug Targets* (Vol. 13).
- Cruz, S. L., Gauthereau, M. Y., Camacho-Muñoz, C., López-Rubalcava, C., & Balster, R. L. (2003a).



- Effects of inhaled toluene and 1,1,1-trichloroethane on seizures and death produced by N-methyl-D-aspartic acid in mice. *Behavioural Brain Research*, 140(1–2), 195–202. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(02\)00323-6](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(02)00323-6)
- Cruz, Silvia L. (2017). 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, Silvia L., & Bowen, S. E. (2021). The last two decades on preclinical and clinical research on inhalant effects. *Neurotoxicology and Teratology*, 87(April), 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2021.106999>
- Cruz, Silvia L., Orta-Salazar, G., Gauthereau, M. Y., Peña, L. M. P., & Salinas-Stefanón, E. M. (2003b). Inhibition of cardiac sodium currents by toluene exposure. *British Journal of Pharmacology*, 140(4), 653–660. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705481>
- Cruz, Silvia 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, Silvia 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 I*. <http://www.jpvet.org>
- Eby, J. M., & Majetschak, M. (2019). Effects of ethanol and ethanol metabolites on intrinsic function of mesenteric resistance arteries. *PLoS ONE*, 14(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214336>
- EPA ORD NCEA Integrated Risk Information System, U. (2005). *Toxicological Review of Toluene (CAS No. 108-88-3) (PDF)*.
- Farinde, A. (2021). Intereacciones fármaco-receptor. *Manual MSD*. Disponible en: <https://www.msmanuals.com/es-mx/professional/farmacolog%C3%ADa-cl%C3%ADnica/farmacocin%C3%A9tica/generalidades-sobre-la-farmacocin%C3%A9tica>
- Flanagan, R. J., & Fisher, D. S. (2013). Volatile Substances and Inhalants. In *Encyclopedia of Forensic Sciences: Second Edition* (2nd ed.). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382165-2.00312-3>
- Gallardo-Ortíz, I. A., Rodríguez-Hernández, S. N., López-Guerrero, J. J., Del Valle-Mondragón, L., López-Sánchez, P., Touyz, R. M., & Villalobos-Molina, R. (2015). Role of  $\alpha$ 1D-adrenoceptors in vascular wall hypertrophy during angiotensin II-induced hypertension. *Autonomic and Autacoid Pharmacology*, 35(3), 17–31. <https://doi.org/10.1111/aap.12035>
- 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>
- Gerasimov, M. R., Schiffer, W. K., Marsteller, D., Ferrieri, R., Alexoff, D., & Dewey, S. L. (2002). Toluene inhalation produces regionally specific changes in extracellular dopamine. In *Drug and Alcohol Dependence* (Vol. 65). [https://doi.org/10.1016/S0376-8716\(01\)00166-1](https://doi.org/10.1016/S0376-8716(01)00166-1)
- Gigengack, R. (2014). The chemo and the mona: Inhalants, devotion and street youth in Mexico city. *International Journal of 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: Ethnographic Insights from Mexico City. In *Neuropathology of Drug Addictions and Substance Misuse* (Vol. 2, pp. 1075–1084). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800212-4.00099-6>
- Glaser, H. H., & Massengale, O. N. (1962). Glue-Sniffing in Children. Deliberate Inhalation of Vaporized Plastic Cements. *Journal of the American Medical Association*, 181(4), 300–303.
- Goddard, M. J. (2019). Drugs and sudden cardiac death. In *Diagnostic Histopathology* (Vol. 25, Issue 8, pp. 324–329). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.mpdhp.2019.05.004>
- Guo, T. J. (2015). A rare but serious case of toluene-induced sudden sniffing death. *Journal of Acute Medicine*, 5(4), 109–111. <https://doi.org/10.1016/j.jacme.2015.09.006>
- Guzmán, M., Mendoza, R., Díaz, C., & García, F. (2020). Intoxicación y muerte por inhalación de tolueno. *Revista Mexico Medicina Forense*, 5(1), 1–10.
- Hernández, A. (2006). Representación social del género masculino en un grupo de niños y jóvenes que viven en la calle, en la Ciudad de México. Segunda parte. *Salud Mental*, 28(1), 56–63.
- Hesapcioglu, S. T. (2014). Risperidone Induced Bradycardia and Syncope in A Case with Volatile Substance Abuse. *Dusunen Adam The Journal of Psychiatry and Neurological Sciences*, 27(1), 74–77. <https://doi.org/10.5350/DAJPN2014270110>
- Ikeda, N., Takahashi, H., Umetsu, K., & Suzuki, T. (1990). The Course of Respiration and Circulation in “Toluene-Sniffin.” *Forensic Science International*, 44, 151–158.
- Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz, Instituto Nacional de Salud Pública, Comisión Nacional Contra las Adicciones, Secretaría de Salud, Villatoro-Velázquez, J. A., Resendiz-Escobar, E., Mujica-Salazar, A., Bretón-Cirett, M., Cañas-Martínez, V., Soto-Hernández, I., Fregoso-Ito, D., Fleiz-Bautista, C., Medina-Mora, M. E., Gutiérrez-Reyes, J., Franco-Núñez, A., Romero-Martínez, M., & Mendoza-Alvarado, L. (2017). *Encuesta Nacional de Consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco 2016-2017: Reporte de Drogas* (Issue August). <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.32871.85921>
- 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., Swigart, P. M., Laden, M. E., DeMarco, T., Hoopes, C., & Simpson, P. C. (2009). The Alpha-1D Is the Predominant Alpha-1-Adrenergic Receptor Subtype in Human Epicardial Coronary Arteries. *Journal of the American College of Cardiology*, 54(13), 1137–1145. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2009.05.056>
- Kobilka, B. (2013). The structural basis of G-protein-coupled receptor signaling (nobel lecture). *Angewandte Chemie - International Edition*, 52(25), 6380–6388. <https://doi.org/10.1002/anie.201302116>
- Lefkowitz, R. J., Rockman, H. A., & Koch, W. J. (2000). Catecholamines, cardiac  $\beta$ -adrenergic receptors, and heart failure. In *Circulation* (Vol. 101, Issue 14, pp. 1634–1637). Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.101.14.1634>
- Lopreato, G. F., Phelan, R., Borghese, C. M., Beckstead, M. J., & Mihic, S. J. (2003). *Inhaled drugs of abuse enhance serotonin-3 receptor function*. [https://doi.org/10.1016/S0376-8716\(02\)00330-7](https://doi.org/10.1016/S0376-8716(02)00330-7)
- McKee, J. R. (2013). *Bioquímica: las bases moleculares de la vida*. McGraw-Hill Education.
- Magos, G. A., Lorenzana-Jiménez, M., & Vidrio, H. (1990). Toluene and benzene inhalation influences on ventricular arrhythmias in the rat. *Neurotoxicology and Teratology*, 12(2), 119–124. [https://doi.org/10.1016/0892-0362\(90\)90122-S](https://doi.org/10.1016/0892-0362(90)90122-S)
- Mishra, R. C., Rahman, M. M., Davis, M. J., Wulff, H., Hill, M. A., & Braun, A. P. (2018). Alpha 1 -adrenergic stimulation selectively enhances endothelium-mediated vasodilation in rat cremaster arteries. *Physiological Reports*, 6(9). <https://doi.org/10.14814/phy2.13703>
- Mohl, M. C., Iismaa, S. E., Xiao, X. H., Friedrich, O., Wagner, S., Nikolova-Krstevski, V., Wu, J., Yu, Z. Y., Feneley, M., Fatkin, D., Allen, D. G., & Graham, R. M. (2011). Regulation of murine cardiac contractility by activation of  $\alpha$ 1A-adrenergic receptor-operated  $\text{Ca}^{2+}$  entry. *Cardiovascular Research*, 91(2), 310–319. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvr081>
- Morvai, V., & Ungváry, G. (1979). Effects of Simultaneous Alcohol and Toluene Poisoning on the Cardiovascular System of Rats. *Acta Physiologica Hungarica*, 50, 381–389.
- Nelson, G. O. (1972). Controlled Test Atmospheres. *American Institute of Chemical Engineers*, 18(1), 256.
- Raj, R. R., & Subramani, S. (2016). Phenylephrine decreases vascular tension in goat arteries in specific circumstances. *PLoS ONE*, 11(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158551>
- Reinhardt, C. F., Azar, A., Maxfield, M. E., Smith, P. E., & Mullin, L. S. (1971). Cardiac Arrhythmias and Aerosol “Sniffing.” *Archives of Environmental Health*, 22(2), 265–279.



<https://doi.org/10.1080/00039896.1971.10665840>

- Rodríguez, J. E., Saucedo-Campos, A. D., Vega, A. V., Ramírez-Hernández, D., Martínez-Aguilar, L., Jiménez-Flores, J. R., Andrade-Jorge, E., Estrada-Soto, S. E., Villalobos-Molina, R., Touyz, R. M., & Gallardo-Ortiz, I. A. (2020). The  $\alpha$ 1D-adrenoreceptor antagonist BMY 7378 reverses cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Hypertension*, 38(8), 1496–1503. <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000002412>
- Secretaría de Salud. (2019). Informe sobre la Situación del Consumo de Drogas en México 1. In *Secretaría de Salud y Comisión Nacional contra las Adicciones*.
- Smothers, T. C., & Woodward, J. J. (2016). Differential effects of TM4 tryptophan mutations on inhibition of N-methyl-D-aspartate receptors by ethanol and toluene. *Alcohol*, 56, 15–19. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2016.10.001>
- Stengard, K., Hoglund, G., & Ungerstedt, U. (1994). Extracellular dopamine levels within the striatum increase during inhalation exposure to toluene: Toxicology letters a microdialysis study in awake, freely moving rats. In *Toxicology Letters* (Vol. 71). [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(94\)90111-2](https://doi.org/10.1016/0378-4274(94)90111-2)
- Tacchi, H. (2008). Receptores beta adrenérgicos e insuficiencia cardíaca. *Insuf.Iciencia Cardiaca*, 3(2), 96–99. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=321927782011>
- 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*, 13(1), 3–8. <https://doi.org/10.5152/akd.2013.001>
- Taylor, G. J., & Harris, W. S. (1970). Glue Sniffing Causes Heart Block in Mice. *Science*, 170, 866–868. <https://doi.org/10.1126/science.170.3960.866>
- Tillar, R., Shafer, T. J., & Woodward, J. J. (2002). Toluene inhibits voltage-sensitive calcium channels expressed in pheochromocytoma cells. In *Neurochemistry International* (Vol. 41).
- Tilley G., D. (2011). G protein-dependent and -independent signaling pathways and their impact on cardiac function. *Circulation Research*, 109(2), 217–230. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.231225.G>
- Tirapelli, C. R., Al-Khoury, J., Bkaily, G., Ans-Juste, P. D. O., Lanchote, V. L., Uyemura, S. A., & De Oliveira, A. M. (2006). Chronic ethanol consumption enhances phenylephrine-induced contraction in the isolated rat aorta. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 316(1), 233–241. <https://doi.org/10.1124/jpet.105.092999>
- Tirapelli, C. R., Leone, A. F. C., Coelho, E. B., Resstel, L. B. M., Corrêa, F. M. A., Lanchote, V. L., Uyemura, S. A., Padovan, C. M., & de Oliveira, A. M. (2007). Effect of ethanol consumption on blood pressure and rat mesenteric arterial bed, aorta and carotid responsiveness. *Journal of*



- Pharmacy and Pharmacology*, 59(7), 985–993. <https://doi.org/10.1211/jpp.59.7.0011>
- Tormoehlen, L. M., Tekulve, K. J., & Nañagas, K. A. (2014). Hydrocarbon toxicity: A review. *Clinical Toxicology*, 52(5), 479–489. <https://doi.org/10.3109/15563650.2014.923904>
- Tsao, J. H., Hu, Y. H., How, C. K., Chern, C. H., Hung-Tsang Yen, D., & Huang, C. I. (2011). Atrioventricular conduction abnormality and hyperchloremic metabolic acidosis in toluene sniffing. *Journal of the Formosan Medical Association*, 110(10), 652–654. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2011.08.008>
- Tulsidas, H. (2010). Glue sniffing: A review. *Proceedings of Singapore Healthcare*, 19(4), 312–318. <https://doi.org/10.1177/201010581001900406>
- Vanhoutte, P. M. (2001). Endothelial Adrenoceptors. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 38(5), 796–808. <https://doi.org/10.1097/00005344-200111000-00016>
- Vélez, N. A., Hernández, G. Y., Pérez, L., & Sainz, M. A. (2016). Las aportaciones de 40 años de investigación epidemiológica en México sobre consumo de solventes inhalables. *Salud Mental*, 39(2), 85–97. <https://doi.org/10.17711/SM.0185-3325.2016.005>
- Vural, M., & Ogel, K. (2006). Dilated Cardiomyopathy Associated with Toluene Abuse. *Cardiology*, 105(3), 158–161. <https://doi.org/10.1159/000091344>
- Wallukat, G. (2002). The  $\beta$ -adrenergic receptors. In *Herz* (Vol. 27, Issue 7, pp. 683–690). <https://doi.org/10.1007/s00059-002-2434-z>
- Williams, J. M., Stafford, D., & Steketee, J. D. (2004). Effects of repeated inhalation of toluene on ionotropic GABA A and glutamate receptor subunit levels in rat brain. *Neurochemistry International*, 46(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2004.07.006>
- Winstock, A. R. (2021). *Global Drugs Survey*.
- Yamaki, F., Zhang, X., Shioda, N., Yoshioka, K., Obara, K., & Tanaka, Y. (2020). Normetadrenaline and metadrenaline induce rat thoracic aorta/prostate contraction via  $\alpha$ 1D/1A-adrenoceptor stimulation. *European Journal of Pharmacology*, 877. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173079>
- Yasar, S., Yildirim, E., Koklu, M., GURSOY, E., Celik, M., & Yuksel, U. C. (2016). A case of reversible cardiomyopathy associated with acute toluene exposure. *Turkish Journal of Emergency Medicine*, 16(3), 1–3. <https://doi.org/10.1016/j.tjem.2016.09.002>



## X REFERENCIAS AUDIOVISUALES

Gauthereau, M. (2020). Inhalables "Las drogas de abuso olvidadas" (webinar). Programa Estudiantil de Capacitación Nicolaita: Marie Curie, Disponible en:

<https://www.facebook.com/PECANIMC/videos/632091440829800>. [Accesado: 11 de septiembre de 2020].

Vargas, D., 2021. *ADRENALINA - RECEPTORES Adrenérgicos, Efectos Farmacológicos, Estructura |Simpaticomiméticos 2*. [online] Youtube.com. Disponible en:

<<https://www.youtube.com/watch?v=kkSQ3jXIEvE>> [Accesado: 8 November 2021].