



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO BIOLÓGICAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**“EFECTOS DEL CONSUMO CRÓNICO DE ALCOHOL SOBRE LA RESPUESTA
VASCULAR α_1 ADRENÉRGICA EN RATAS DIABÉTICAS”**

Tesis

Para obtener el grado de Maestra en Ciencias en Biología Experimental

Presenta

Q.F.B. LIZBETH GUADALUPE VILLALÓN MAGALLÁN

Director de tesis

D.C. ASDRÚBAL AGUILERA MÉNDEZ

Co-Director de tesis

D.C. DANIEL GODÍNEZ HERNÁNDEZ

Morelia, Michoacán, Agosto 2023

Agradecimientos

A mis padres por enseñarme su amor a labrar la tierra, por mantener la esperanza en los escenarios más oscuros, por crear esa fortaleza en San Daniel

Dr. Daniel por presentarme su mundo y abrirme una puerta en él

Dr. Asdrúbal por su paciencia, por ser siempre el apoyo que incentivo mis esfuerzos

Al comité tutorial Dra. Rocío, Dr. Salvador, Dr. Alfredo por su valiosos aportes a esta investigación y las múltiples muestras de apoyo con mi persona

M.C. Nicolás por su apoyo genuino y cuidado del profesor escritor

A tantas personas por su inmerecido cariño

ÍNDICE DE CONTENIDO

ABREVIATURAS	6
ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE TABLAS	8
RESUMEN	9
ABSTRACT	10
1. INTRODUCCIÓN	11
1.1 DEFINICIÓN DE LA DIABETES MELLITUS	11
1.1.1 DIAGNÓSTICO DE LA DIABETES	11
1.1.2 CLASIFICACIÓN DE LA DIABETES	13
1.1.3 PERSPECTIVA ACTUAL DE LA DIABETES	15
1.1.4 PROGRESIÓN DE LA DIABETES	15
1.1.5 LA INSULINA	16
1.2 EL ENDOTELIO VASCULAR	18
1.3 LA PRESIÓN ARTERIAL	19
1.3.1 DIAGNÓSTICO DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL	20
1.3.2 CLASIFICACIÓN DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL	20
1.3.3 HIPERTENSIÓN ARTERIAL	21
1.4 DESARROLLO DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL EN LA DIABETES	23

1.5 SISTEMA NERVIOSO SIMPÁTICO	25
1.5.1 TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES MEDIADA POR RECEPTORES ADRENÉRGICOS α_1	25
1.5.2 EXPRESIÓN Y REGULACIÓN DE LOS RECEPTORES DRENÉRGICOS α_1	27
1.6 EL ALCOHOL	30
1.6.1 EL ALCOHOL Y SU RELACIÓN CON EL RIESGO CARDIOVASCULAR	31
1.6.2 RELACIÓN ENTRE EL CONSUMO DE ALCOHOL Y LA DIABETES	32
2. JUSTIFICACIÓN	35
3. HIPÓTESIS	36
4. OBJETIVO GENERAL	36
4.1 OBJETIVOS PARTICULARES	36
5. MATERIALES Y MÉTODOS	37
5.1 MATERIAL BIOLÓGICO	37
5.2 INDUCCIÓN DE DIABETES Y ADMINISTRACIÓN DE ALCOHOL	37
5.3 MEDICIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL	38
5.4 ENSAYO FUNCIONAL DE AORTA	38
5.5 DETERMINACIÓN DE LA CE_{50} Y pA_2	39
5. 6 INMUNODETECCIÓN DEL RECEPTOR ADRENÉRGICO α_{1D}	39
5.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	41

6. RESULTADOS	42
6.1 EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE ALCOHOL SOBRE EL CONSUMO DE AGUA Y ALIMENTO	42
6.2 EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE ALCOHOL SOBRE EL PESO DE LOS ANIMALES	43
6.3 EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE ALCOHOL SOBRE LOS NIVELES DE GLUCOSA EN SANGRE	44
6.4 EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE ALCOHOL SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL	45
6.5 CURVAS DE CONCENTRACIÓN RESPUESTA A LA FENILEFRINA EN LA AORTA	46
6.6 EFECTOS MÁXIMOS A LA FENILEFRINA	47
6. 7 DETERMINACIÓN DE LA POTENCIA DEL ANTAGONISTA BMY 7378 EN LA AORTA	48
6.8 AFINIDAD APARENTE	52
6.9 DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR ADRENÉRGICO EN LA AORTA	52
7. DISCUSIÓN	54
8. CONCLUSIÓN	64
9. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	65
10. REFERENCIAS	66

ABREVIATURAS

ADA	Asociación Americana de Diabetes
AKT	Proteína cinasa B
AR	Receptores adrenérgicos
CaM	Calmodulina
DAG	Diacilglicerol
DM	Diabetes mellitus
DMI	Diabetes mellitus tipo I
DMII	Diabetes mellitus tipo II
eNOS	Óxido nítrico sintasa endotelial
GC	Guanilil ciclasa
MAPK	Proteínas cinasas activadas por mitógenos
MLCK	Cinasa de cadenas ligeras de miosina
MODY	Diabetes de adulto de inicio juvenil
mTOR	Diana de rapamicina en células de mamífero
NO	Óxido nítrico
PDK1/2	Cinasa dependiente de fosfatidilinositol
IP3K	Cinasa de fosfatidilinositol trifosfato
PKC	Proteína cinasa C
PLC- β	Fosfolipasa C
SMC	Células del músculo liso
SNS	Sistema nervioso simpático
STZ	Estreptozotocina
TNF α	Factor de necrosis tumoral alfa

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. ACTIVACIÓN DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE LA INSULINA.....	17
FIGURA 2. VÍA DE SEÑALIZACIÓN ACTIVADA POR UNIÓN DE ADRENALINA A RECEPTORES ADRENÉRGICOS α_1 ACOPLADOS A UNA PROTEÍNA G..	27
FIGURA 3. EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE ALCOHOL SOBRE EL PESO DE LOS ANIMALES	43
FIGURA 4. EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE ALCOHOL SOBRE LOS NIVELES DE GLUCOSA EN SANGRE.	44
FIGURA 5. EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE ALCOHOL SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL.....	45
FIGURA 6. EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE ALCOHOL SOBRE LA CONTRACTILIDAD α_1 ADRENÉRGICA	46
FIGURA 7. CCR EN PRESENCIA DE BMY 7378 EN LA AORTA DE RATAS CONTROL.	48
FIGURA 8. CCR EN PRESENCIA DE BMY 7378 EN LA AORTA DE RATAS ADMINISTRADAS CON ETANOL.	49
FIGURA 9. CCR EN PRESENCIA DE BMY 7378 EN LA AORTA DE RATAS DIABÉTICAS ADMINISTRADAS CON ETANOL.	50
FIGURA 10. CCR EN PRESENCIA DE BMY 7378 EN LA AORTA DE RATAS DIABÉTICAS.....	51
FIGURA 11. WESTERN BLOT DE LA ABUNDANCIA RELATIVA DEL RECEPTOR ADRENÉRGICO α_{1D} EN LA AORTA.	53

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. CRITERIOS DE DIAGNÓSTICO DE LA DIABETES POR LA ADA	12
TABLA 2. CLASIFICACIÓN DE LA DIABETES POR LA ADA	13
TABLA 3. CLASIFICACIÓN DE LA HIPERTENSIÓN POR LA SIH.....	21
TABLA 4. INDUCTORES DE LA EXPRESIÓN DE RECEPTORES α_1 ADRENÉRGICOS	29
TABLA 5. EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE ALCOHOL SOBRE EL CONSUMO DE AGUA Y ALIMENTO.	42
TABLA 6. RESPUESTA CONTRÁCTIL MÁXIMA A LA FENILEFRINA EN LA AORTA.....	47
TABLA 7. AFINIDAD APARENTE DEL BMY 7378 POR EL RECEPTOR α_{1D} EN LA AORTA	52

RESUMEN

La génesis y progresión de la diabetes mellitus como síndrome heterogéneo se caracteriza por defectos en la producción de insulina por el páncreas, en la sensibilidad de las células a esta hormona y modificaciones funcionales en la vía de señalización de la insulina, responsables del incremento en los niveles de glucosa en sangre y alteraciones funcionales en la vasculatura. Dentro de los factores involucrados en el establecimiento de la diabetes se conoce que la sobreactivación del sistema nervioso simpático desempeña una participación importante, la adrenalina es un potente vasoconstrictor y estimulante cardíaco, mientras que el alcohol es considerado un simpatomimético. En el presente trabajo se analizó el efecto del alcohol sobre la respuesta contráctil α_1 adrenérgica en la aorta torácica en ratas normoglucémicas y diabéticas de 350 g con y sin la administración de alcohol (3 g kg^{-1} día⁻¹ durante 21 días p.o.) y se identificó el receptor adrenérgico α_1 que media la respuesta contráctil empleando BMY 7378 (un antagonista selectivo α_{1D}). Los resultados mostraron que la aorta expresa funcionalmente el receptor adrenérgico α_{1D} . Además, los niveles de la proteína α_{1D} fueron más altos en la aorta de ratas con diabetes experimental comparados con la aorta de ratas normoglucémicas, de modo interesante el aumento de la presión arterial y la expresión del receptor adrenérgico α_{1D} no se correlaciona con un aumento en la respuesta contráctil máxima a fenilefrina. La administración de alcohol en ratas con diabetes experimental disminuye la expresión del receptor adrenérgico α_{1D} , mientras que la respuesta contráctil máxima a fenilefrina no fue diferente estadísticamente en comparación con las ratas diabéticas no administradas. Estos resultados sugieren que la interacción entre el receptor adrenérgico α_{1D} y el alcohol modula la función vascular y contribuye al desarrollo de las complicaciones vasculares de la diabetes.

Palabras clave: diabetes, receptor adrenérgico, vasculatura, hipertensión

ABSTRACT

Diabetes mellitus origin and progression as a heterogeneous syndrome are characterized by defects in insulin production by the pancreas, in the sensitivity of cells to this hormone, and functional modifications in the insulin signaling pathway, responsible for the increase in blood glucose levels and functional alterations in the vasculature. Among the factors involved in the onset of diabetes, it is known that the overactivation of the sympathetic nervous system plays a significant role, adrenaline acts as a potent vasoconstrictor and cardiac stimulant, while alcohol is considered a sympathomimetic agent. In the present work, we analyzed the effect of alcohol on α_1 adrenergic contractile response in the thoracic aorta of both normoglycemic and diabetic 350 g rats with and without alcohol administration (3 g kg⁻¹ per day for 21 days p.o.). The α_1 adrenergic receptor mediating the contractile response was identified using BMY 7378 (selective α_{1D} antagonist). The results demonstrated functional expression of the α_{1D} adrenergic receptor in the aorta. Moreover, levels of the α_{1D} protein were higher in the aorta of rats with experimental diabetes compared to the aorta of normoglycemic rats. Interestingly, the increased blood pressure and expression of the α_{1D} adrenergic receptor were not correlated with an increase in the maximum contractile response to phenylephrine. Alcohol administration in rats with experimental diabetes decreased the expression of the α_{1D} adrenergic receptor, while the maximum contractile response to phenylephrine was not statistically different compared to untreated diabetic rats. These results suggest that the interaction between the α_{1D} adrenergic receptor and alcohol influence vascular function and contribute to the development of vascular complications in diabetes.

Keywords: diabetes, adrenergic receptor, vasculature, hypertension

1. INTRODUCCIÓN

1.1 DEFINICIÓN DE LA DIABETES MELLITUS

De acuerdo con Petersmann y colaboradores 2019, “la diabetes mellitus (DM) corresponde a una enfermedad del sistema endocrino que integra un grupo de desórdenes metabólicos heterogéneos”. Estos desórdenes se caracterizan por presentar niveles elevados de glucosa en sangre, los cuales resultan de la deficiencia absoluta o relativa de la producción de insulina y/o defectos en la función del receptor de insulina, así como las vías de señalización activadas por su unión. Estos eventos desencadenan una serie de mecanismos compensatorios destinados a mantener la homeostasis de la glucosa a nivel celular.

La susceptibilidad genética se ha identificado como uno de los factores de riesgo mayores en el desarrollo de la diabetes (Cole y Florez, 2020). Además, se ha observado que los hábitos alimenticios desequilibrados, y los niveles reducidos de actividad física también ejercen una influencia en la aparición de esta enfermedad (Lascar *et al.*, 2018)

1.1.1 DIAGNÓSTICO DE LA DIABETES

La diabetes se define mediante ensayos de medición de la concentración glucosa en sangre. La Asociación Americana de diabetes (ADA por sus siglas del inglés) ha establecido criterios para el diagnóstico de la enfermedad, los más recientes se presentan en la Tabla 1 (American Diabetes Association, 2023). Estos criterios se utilizan para

implementar pruebas preventivas en individuos con factores de riesgo elevados, así como para determinar el estadio de la enfermedad, monitorear el control glucémico y efectividad de intervenciones terapéuticas en aquellos que han sido diagnosticados. El diagnóstico de diabetes se define por el hallazgo de al menos dos de los ensayos presentados en la tabla 1 con niveles de glucosa en sangre mayores a los parámetros indicados.

Tabla 1. Criterios de diagnóstico de la diabetes por la ADA

Glucosa plasmática en ayunas (FPG del inglés fasting plasma glucose) ≥ 126 mg/dL (7.0 mmol/L). El ayuno es definido por la ausencia de la ingesta calórica por al menos 8 horas anteriores a la medición.

Ensayo de tolerancia oral a glucosa (OGTT, del inglés oral glucose tolerance test) ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L). La medición debe ser realizada 2 horas posterior a la administración del equivalente a 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua.

En pacientes con síntomas clásicos de hiperglicemia o crisis hiperglicémica; una medición de glucosa en plasma ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L).

Hemoglobina glicosilada A1C 5.7–6.4% (39–47 mmol/mol).

1.1.2 CLASIFICACIÓN DE LA DIABETES

La ADA clasifica a la diabetes atendiendo su etiología como se muestra a continuación en la Tabla 2.

Tabla 2. Clasificación de la diabetes por la ADA

Diabetes mellitus tipo I (DMI). La DMI representa la incapacidad del cuerpo para el empleo de glucosa presente en la circulación sanguínea, como consecuencia de la disfunción y apoptosis autoinmune de las células pancreáticas β generando una disminución progresiva en los niveles de insulina (Eizirik <i>et al.</i>, 2020).
Diabetes mellitus tipo II (DMII). En la DMII la pérdida de sensibilidad a la insulina en tejidos insulino dependientes conduce a una menor disponibilidad de glucosa en las células. Esta disminución en la captación de glucosa al interior celular conduce a una hipersecreción de insulina por el páncreas como respuesta endócrina compensatoria para el mantenimiento de la homeostasis energética (Petrie <i>et al.</i>, 2018). Por otro lado existe una reducción de la masa de los islotes pancreáticos por apoptosis y pérdida de identidad de las células pancreáticas β (Sun y Han, 2020).
Diabetes gestacional. Referida como una alteración en la tolerancia a glucosa en el periodo gestacional, está se detecta por primera vez entre la semana 24 y 32 de la gestación. Su fenotipo es aparentemente distinguible de otras formas de diabetes. La aparición de

hiperglicemia materna estimula al páncreas fetal a responder funcionalmente a los altos niveles de glucosa induciendo hiperinsulinemia fetal, además de influir en el crecimiento fetal (peso al nacer) y riesgo de complicaciones al corto y largo plazo (Sweeting *et al.*, 2022).

Otros tipos de diabetes. Diabetes en las que el desarrollo de la patología es atribuible a agentes puntuales que impactan la función/integridad de los islotes pancreáticos.

Diabetes de adulto de inicio juvenil (MODY del inglés Maturity onset diabetes of the Young) es un término histórico referido a diabetes monogénica desarrollada a temprana edad, una colección de desórdenes hereditarios distinguibles del fenotipo autoinmune en DMI (Broome *et al.*, 2021).

Diabetes asociada a enfermedades del páncreas. El daño de los islotes pancreáticos en el curso de una enfermedad afecta su capacidad funcional en la liberación de hormonas y polipéptidos incluyendo la insulina provocando fluctuaciones abruptas en los niveles de glucosa (Wynne *et al.*, 2019).

Diabetes inducida por fármacos. Desarrollada en el periodo de exposición o ingesta de agentes químicos o farmacológicos que inducen hiperglicemia a través de alteraciones en la liberación, la sensibilidad insulina, y efectos citotóxicos directos sobre las células pancreáticas (Fathallah *et al.*, 2015).

1.1.3 PERSPECTIVA ACTUAL DE LA DIABETES

Las estimaciones realizadas por la Federación Internacional de Diabetes (IDF por sus siglas del inglés) señalan que la incidencia de la diabetes está experimentando un incremento significativo a nivel global, para el año 2045 afectará a 783 millones de adultos (International Federation of Diabetes, 2022). Este dato posiciona a la diabetes como una de las enfermedades con mayor tasa de crecimiento en el mundo.

En México, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT 2020 sobre Covid 19) reportó 13.4 millones de personas que padecían diabetes representando la segunda causa de muerte después de las enfermedades cardiovasculares (Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2020 sobre COVID-19 2021).

1.1.4 PROGRESIÓN DE LA DIABETES

La aparición de la DM en sus diversos fenotipos, aunque con diferentes niveles de progresión, conduce a las mismas complicaciones. Sin embargo, factores como la hiperglucemia, la edad, el período de progresión y la presencia de factores de riesgo clásicos como el consumo de tabaco, la obesidad y el consumo de alcohol pueden ejercer una influencia significativa en el pronóstico de la enfermedad (Werner *et al.*, 2019).

La hiperglicemia desencadena un efecto tóxico de la glucosa en el sistema vascular, lo cual resulta en daño vascular y un incremento gradual en la presión arterial en su progresión. La diabetes y la hipertensión arterial comparten múltiples mecanismos fisiopatológicos que promueven su coexistencia y exacerbación, lo que aumenta el riesgo

de complicaciones vasculares (Yildiz *et al.*, 2020). De acuerdo con Cole y colaboradores (2020), las complicaciones vasculares son la principal causa de morbilidad y mortalidad en individuos afectados por la diabetes. Estas complicaciones pueden presentarse como agudas o crónicas. Entre las complicaciones agudas se encuentran la cetoacidosis diabética, el coma hiperosmolar no cetósico y la hipoglucemia. Por otro lado, las complicaciones crónicas se dividen en microvasculares que incluyen la retinopatía, la neuropatía, y la nefropatía, y las macrovasculares que engloban el infarto al miocardio y el accidente cerebrovascular.

1.1.5 LA INSULINA

La vía de señalización de la insulina presenta una complejidad y una diversidad de efectos significativos. En general, comienza con la unión de la insulina al receptor de insulina tirosina cinasa (figura 1), lo que induce la autofosforilación del receptor en los residuos de tirosina Tyr 1158, Tyr 1162 y Tyr 1163, y el reclutamiento de diferentes adaptadores de sustrato, como la familia de proteínas IRS. Una vez fosforilado, el IRS exhibe sitios de unión para diversas proteínas, incluyendo la cinasa de fosfatidil inositol trifosfato (IP3K), que genera inositol 1,4,5 trifosfato (IP3), un segundo mensajero que activa las proteínas cinasas dependientes de fosfatidilinositol 1 y 2 (PDK1 y PDK2). A su vez, estas proteínas cinasas activan la proteína cinasa Akt/PKB, que fosforila a las proteínas AS160 y TBC1D1, las cuales son activadoras de la Rab-GTPasa. Esta actividad promueve la hidrólisis de guanosina-5'-trifosfato (GTP) a guanosina difosfato (GDP) en las vesículas que contienen GLUT4, lo que favorece su translocación a la membrana celular y facilita la

captación de glucosa plasmática en el interior de las células adiposas y musculares (Elmadhun *et al.*, 2013).

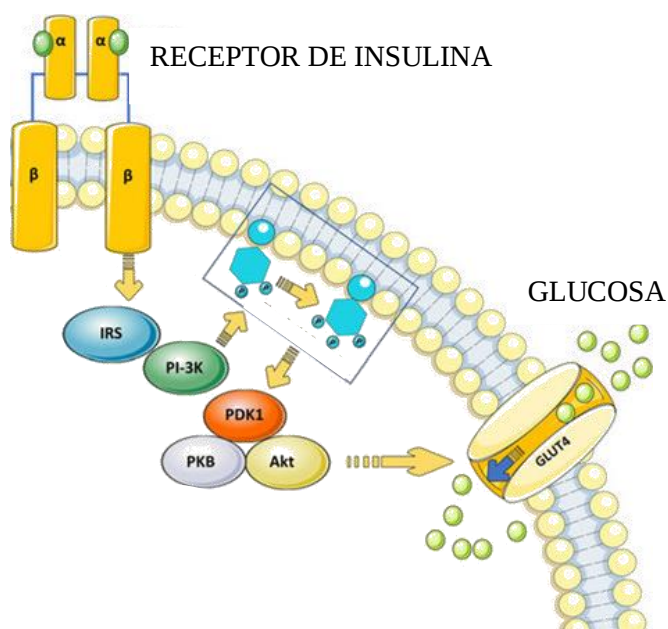


Figura 1. Activación de la vía de señalización de la insulina. La unión de insulina a su receptor con la consecuente activación de la vía promueve la translocación de GLUT 4 para la captación de glucosa.

En ausencia de insulina, solo alrededor del 5 % de las reservas intracelulares de GLUT4 se encuentran en la superficie celular. Los defectos en la translocación de GLUT4 a la membrana plasmática en respuesta a esta hormona se consideran un indicador temprano del desarrollo de la resistencia a la insulina y la DMII (Leto y Saltiel, 2012).

En concentraciones fisiológicas, la insulina desempeña un papel regulador en la producción de óxido nítrico (NO) a través de la vía de señalización IP3K/Akt/NO. La liberación de NO promueve el aumento del flujo microvascular, favoreciendo la captación de nutrientes y la relajación vascular. La fosforilación de la óxido nítrico sintasa endotelial

(eNOS) en la serina 1177 por Akt estimula la producción de NO de manera independiente del calcio. Sin embargo, en estados patológicos, la disfunción de la señalización de insulina altera la expresión de la eNOS y la producción del NO, además de promover la liberación de moléculas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), interleucina 1 (IL-1) e interleucina 6 (IL-6). El TNF α tiene la capacidad de inhibir el efecto de la insulina en la microvasculatura (Hill *et al.*, 2021). Por otro lado, la IL-1 e IL-6 agravan el estrés oxidativo, lo que a su vez contribuye a las alteraciones del tono vascular, incluida la función endotelial (Giri *et al.*, 2018).

1.2 EL ENDOTELIO VASCULAR

El dinamismo de la función reguladora del tono vascular por parte del endotelio está sujeto a efectos opuestos y reversibles. El aumento en las concentraciones de calcio, ya sea proveniente de las reservas internas o mediante la apertura de canales iónicos en la membrana, conduce a la hiperpolarización de la membrana. Las señales hiperpolarizantes en el endotelio vascular promueven la vasodilatación de las células del músculo liso (SMC por sus siglas del inglés) al inhibir los canales de calcio dependientes de voltaje. El aumento de calcio intracelular también activa la eNOS y aumenta la producción de NO, que difunde fuera de la célula endotelial y activa los canales de potasio sensibles al calcio a través de la vía de la proteína guanilil ciclasa (CG)/GMPc/proteína cinasa G (PKG) en las SMC. Las alteraciones en la función del endotelio vascular, ya sea en su capacidad para producir y liberar sustancias vasoactivas o en su función de modular la permeabilidad

endotelial, conducen a la disfunción vascular y al desarrollo de la hipertensión arterial (Yuan *et al.*, 2021).

1.3 LA PRESIÓN ARTERIAL

La presión arterial se genera mediante la contracción de los ventrículos durante la sístole ventricular, alcanzando su valor máximo cuando los ventrículos eyectan la sangre a las arterias (presión sistólica) 120 mmHg. Posteriormente, durante la diástole ventricular la presión arterial disminuye después del pico de eyección alcanzando valores de (presión diastólica) 60-80 mmHg. El flujo sanguíneo dentro de las estructuras vasculares ejerce una fuerza sobre las paredes elásticas, lo que produce una fuerza de retroceso que, con base en las propiedades elásticas de la estructura, crea una presión (Coffman 2011).

La presión arterial se modula por el volumen del fluido circulatorio eyectado por el corazón, la frecuencia contráctil cardíaca y la resistencia arterial periférica (elasticidad de la pared arterial). En particular, la frecuencia cardíaca está modulada por el sistema nervioso simpático (SNS, por sus siglas del inglés), mientras que la resistencia arterial periférica se regula por el tono vascular o el estado contráctil de las pequeñas arterias a lo largo del cuerpo. Estos mecanismos, a su vez están determinados por los procesos de remodelación vascular y por la presencia de agentes vasoactivos (Ohishi 2018).

1.3.1 DIAGNÓSTICO DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL

La presión arterial se estima clásicamente mediante la medición indirecta de la presión intraarterial del paciente. Esta medición se realiza mientras el paciente se encuentra sentado en un soporte con respaldo, con los pies relajados sobre el piso con el brazo al nivel del corazón en un periodo de reposo de al menos 5 minutos. Para realizar el diagnóstico, el monitoreo de la presión arterial en la consulta médica y en el hogar, realizada dos veces por la noche y dos veces por la mañana por al menos una semana, se considera la herramienta más cercana en el pronóstico y estimación del riesgo de complicaciones vasculares en pacientes hipertensos (Ghorani *et al.*, 2022).

Los valores normales de la presión arterial (120/80 mmHg) son establecidos por instituciones designadas, que consideran datos epidemiológicos provenientes de la industria, servicios médicos y apreciación del riesgo de daño final a órganos. Sin embargo, es importante destacar que estas designaciones son en cierto grado arbitrarias, ya que no existen puntos de corte biológicos naturales, y la variabilidad entre individuos es alta. De especial interés son los grupos con factores de riesgo preexistentes como el padecimiento de diabetes o enfermedad renal crónica (Materson 2014).

1.3.2 CLASIFICACIÓN DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL

De acuerdo con la Sociedad Internacional de Hipertensión (SIH, 2020) la clasificación de la hipertensión en torno a los valores mmHg, es presentada a continuación en la Tabla 3.

Tabla 3. Clasificación de la hipertensión por la Sociedad Internacional de Hipertensión

PA Sistólica (mmHg)	PA diastólica (mmHg)	Clasificación Hipertensión arterial
<130	<85	Normal
130-139	85-89	Prehipertensión
140-159	90-99	Hipertensión grado I
≥ 160	≥ 100	Hipertensión grado II

1.3.3 HIPERTENSIÓN ARTERIAL

La hipertensión es una enfermedad crónica altamente prevalente que afecta a más de mil millones de personas en todo el mundo. Se le considera el factor de riesgo principal en el desarrollo de eventos cardiovasculares graves, incluyendo el infarto de miocardio, el accidente cerebrovascular, la insuficiencia cardíaca y la enfermedad renal. Estas enfermedades están asociadas con las tasas más altas de morbilidad y mortalidad a nivel global (Organización Mundial de la Salud, 2021).

La etiología de la hipertensión en la mayoría de los individuos presenta dificultades para su determinación, lo cual complica la identificación de terapias óptimas. Esto lleva a la necesidad de tomar decisiones terapéuticas basadas en gran medida en consideraciones empíricas, como la edad, la raza y la presencia de enfermedades coexistentes como la diabetes o la enfermedad cardíaca.

El SNS desempeña un papel fundamental en el control de la presión arterial, como se evidencia en la eficacia de fármacos antihipertensivos tales como bloqueadores

simpáticos α o β , que antagonizan los efectos del SNS y soportan su contribución clave en el desarrollo de la hipertensión. Sin embargo, es importante destacar que estos medicamentos a menudo están asociados con efectos adversos como letargia, boca seca e impotencia. En este sentido, la actividad de los nervios simpáticos, el derrame de norepinefrina y la variabilidad de la frecuencia cardíaca han sugerido que los humanos con hipertensión, exhiben un flujo de salida simpático y una vasoconstricción mediada por catecolaminas aumentada (Guyenet *et al.*, 2019).

En la hipertensión, la retención de sodio provoca una expansión del volumen sanguíneo y un aumento en la presión arterial, lo que a su vez incrementa la perfusión en los tejidos, induciendo un proceso autorregulatorio que conduce a una alteración del tono vascular y la consecuente elevación de la resistencia arterial periférica. La inhibición de las vías de señalización que regulan el tono vascular puede abolir esta respuesta reguladora, resultando en una resistencia vascular disminuida y una presión arterial menor. Sin embargo, el papel de esta disminución en la resistencia vascular en la propensión al daño final a órganos en la hipertensión es menos clara, y su efecto protector es atribuido a su capacidad para atenuar la vasoconstricción en la circulación renal, preservando el flujo sanguíneo en el riñón y facilitando la excreción de sodio (Coffman 2011).

La rigidez de las grandes arterias de conducción, especialmente la aorta proximal, es una alteración de la función vascular que contribuye a la hipertensión. Aunque los mecanismos exactos por los cuales la rigidez aórtica causa daño a los órganos aún no se comprenden completamente, una de las consecuencias es la mayor propagación de la presión hacia la microcirculación. Esto resulta en un barotrauma en la microvasculatura, en

parte debido al estiramiento cíclico progresivo de las células endoteliales microvasculares (Clayton *et al.*, 2021).

1.4 DESARROLLO DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL EN LA DIABETES

El incremento en los índices de masa corporal se ha asociado con un aumento en la incidencia de insulinoresistencia, no solo como una anormalidad metabólica, sino también como un factor de riesgo en las enfermedades cardiovasculares (Yildiz *et al.*, 2020). El incremento del tono vascular por regulación del SNS puede interferir en la homeostasis de la insulina durante la progresión de la diabetes. La activación de los receptores adrenérgicos α_2 inhibe la liberación de insulina al inhibir a las cinasas de serina y treonina (RTK), que son responsables de anular la señalización de la insulina. Por otro lado, la activación de los receptores adrenérgicos α_1 promueven la captación de glucosa al estimular los transportadores de glucosa GLUT1 y GLUT4, a través de la activación de la proteína cinasa C delta (PKC δ) (Papay y Perez, 2021).

En las etapas iniciales de la diabetes, se observa un aumento en la resistencia arterial periférica debido a la remodelación vascular asociada con la hiperinsulinemia e insulinoresistencia. A medida que la diabetes progresa, se produce una mayor remodelación vascular y un aumento en la resistencia arterial periférica, lo que finalmente contribuye al desarrollo de la hipertensión y a las complicaciones vasculares en los individuos diabéticos (Ohishi 2018).

Las SMC sensibles a la modulación del SNS desempeñan un papel crucial en la regulación de la presión arterial, de manera fisiológica muestran una notable plasticidad en

respuesta a los estímulos presentes en el microambiente. En el caso de individuos afectados por DM, la hiperglicemia provoca la proliferación de las SMC, lo que conduce a un cambio hacia un fenotipo hipercontráctil en la vasculatura. Este cambio fenotípico altera la plasticidad vascular y conduce a la disfunción vascular (Liu *et al.*, 2020).

En el contexto de la DM, el fenotipo hipercontráctil en la vasculatura y la presencia de lesiones microvasculares se caracterizan por un engrosamiento de la membrana basal en distintos sistemas, lo cual expone al tejido a condiciones hipóxicas debido a la disfunción vascular, desequilibrios homeostáticos y la persistente presencia de glucotoxicidad en los pequeños vasos. Estas alteraciones afectan principalmente a estructuras como el globo ocular, el riñón y los nervios periféricos, resultando en ceguera, insuficiencia renal y amputaciones, todos ellos factores predictivos de futuras complicaciones cardiovasculares (Mota *et al.*, 2020).

No sólo la aparición de hipertensión es más frecuente en pacientes con diabetes, sino que la diabetes es más común en pacientes hipertensos que en la población general. La hipertensión ocurre en un 50-80 % de los pacientes con DMII (quienes constituyen ~90 % de individuos diabéticos), comparado con ~30 % de los pacientes con DMI quienes desarrollan hipertensión. El mayor porcentaje de pacientes con DMII cuya progresión se acompaña de la aparición de hipertensión sugiere que la insulinoresistencia e hiperinsulinemia desempeñan una participación esencial en la patogénesis de ambas entidades. Por lo que las intervenciones terapéuticas sobre ambos factores son consideradas un blanco en los intentos de disminuir el riesgo cardiovascular en pacientes diabéticos (Yamazaki *et al.*, 2018).

1.5 SISTEMA NERVIOSO SIMPÁTICO

El SNS se caracteriza por responder a los estímulos de miedo, pelea o huida. La noradrenalina es un potente vasoconstrictor y estimulante cardíaco, activa todos los subtipos de receptores adrenérgicos. Los receptores adrenérgicos (RA) son proteínas de membrana acopladas a proteínas G que modulan las acciones de la adrenalina. Los RA se integran en tres subfamilias, cada una con tres subtipos, los receptores α_1 integran α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} ; los receptores α_2 incluyen α_{2A} , α_{2B} , α_{2C} ; y los β engloban β_1 , β_2 , β_3 , cada uno con distribuciones y afinidades diferenciadas por ligandos endógenos (Qu *et al.*, 2019). La adrenalina es capaz de elevar la presión arterial incrementando el ritmo cardíaco y la fuerza de contracción cardíaca vía $RA\beta_2$, y aumentando la resistencia arterial periférica vía $RA\alpha_1$.

1.5.1 TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES MEDIADA POR RECEPTORES ADRENÉRGICOS α_1

En el músculo liso la unión del agonista a los $RA\alpha_1$ acoplados a proteínas heterotriméricas Gq (figura 2), activan la fosfolipasa C (PLC- β) que cataliza la formación de los segundos mensajeros IP3 y 2-diacilglicerol (DAG) a partir del fosfolípido fosfatidilinositol 4,5 bifosfato (PIP2). El IP3 se une a su receptor en el retículo endoplásmico IP3R promoviendo el aumento de calcio desde las reservas en el retículo sarcoplásmico, mientras que el DAG activa a la proteína cinasa C (PKC) promoviendo su translocación a la membrana y activación de la cascada de proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPK) (Touyz *et al.*, 2018).

De modo subsecuente, el calcio se une a la calmodulina (CaM) la cual interactúa con la cinasa de cadena ligera de miosina (MLCK) promoviendo la fosforilación de las cadenas ligeras de miosina (MLC) en S19 o Y18; las MLC fosforiladas forman entonces puentes cruzados con actina induciendo la contracción. De modo subsecuente, la fosfatasa de cadenas ligeras de miosina (MLCP) desfosforila a MLC promoviendo la relajación del músculo liso. El equilibrio en la interacción de MLCK y MLCP modulan la vasoconstricción/vasorrelajación por la activación de los receptores α_1 adrenérgicos (Beghi *et al.*, 2022). La actividad de la PKC tiene una participación esencial en la modulación del tono vascular, además de la fosforilación de MLC dependiente de calcio; PKC fosforila CPI-171 en Thr 38. CPI-171 es una proteína inhibidora de MLCP en el músculo liso que favorece el sostenimiento de la contracción. Una mayor actividad de PKC ha sido asociada a desordenes vasculares incluyendo lesiones por isquemia reperusión, hipertensión y vasculopatía diabética (Ringvold y Khalil, 2017).

El aumento en la liberación de calcio estimula su retorno a reservas intracelulares vía la ATPasa de calcio en el retículo endoplásmico, mientras en la membrana plasmática el intercambiador de sodio calcio (NCX) y la ATPasa de calcio (PMCA) pueden contribuir a disminuir la concentración de calcio; el calcio se disocia de la CaM conforme decrece la concentración de calcio, lo cual termina el proceso de contracción (Kitazawa *et al.*, 2003).

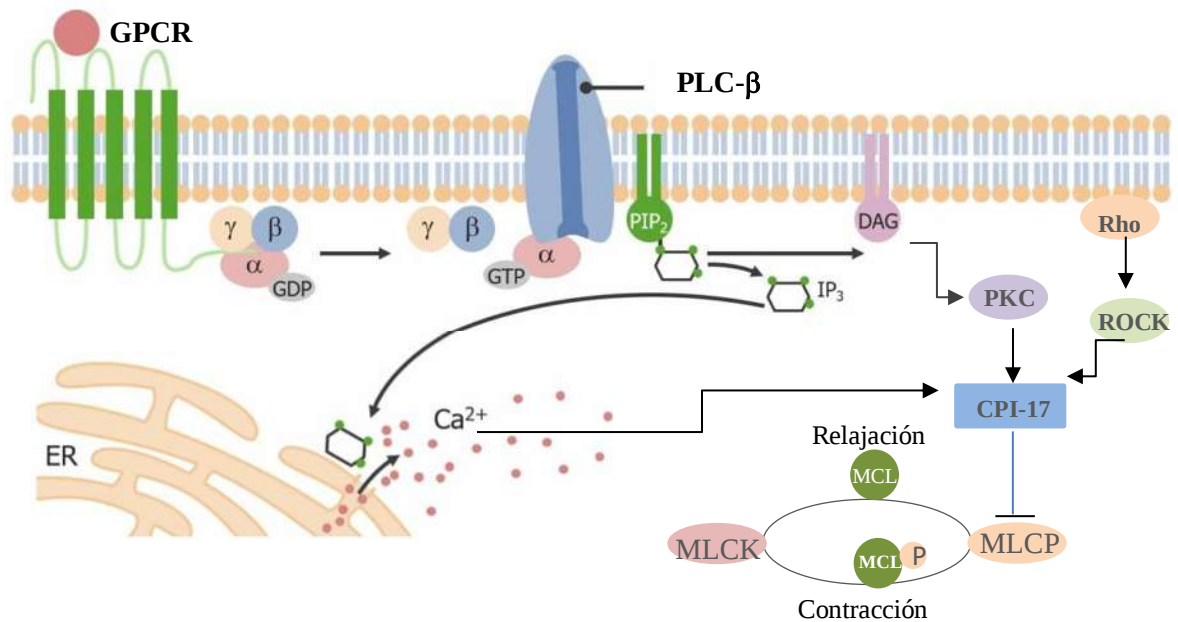


Figura 2. Vía de señalización activada por la unión de adrenalina a receptores adrenérgicos α_1 acoplados a una proteína Gq. Imagen modificada de (Cellsignal.Com, 2014).

1.5.2 EXPRESIÓN Y REGULACIÓN DE LOS RECEPTORES DRENÉRGICOS α_1

La distribución del subtipo de $\text{RA}\alpha_1$ en la vasculatura está influenciada por la inervación simpática y el calibre de los vasos; una distribución diferencial indica una relevancia fisiológica y patológica. En la aorta de ratas y en los humanos los receptores predominantemente expresados son los α_{1D} , los cuales se encuentran estrechamente relacionados con el sostenimiento de la presión arterial. En la aorta este subtipo de receptores modulan predominantemente la vasoconstricción; con una menor densidad se encuentran los $\text{RA}\alpha_{1A}$ y $\text{RA}\alpha_{1B}$.

En la vasoconstricción mediada por el $RA\alpha_{1D}$, la N-glicosilación del receptor en los residuos de asparagina N65 y N82 del extremo N-terminal en el lumen del retículo endoplásmico facilita su inserción en la membrana plasmática, respuesta funcional a fenilefrina y biogénesis (Janezic *et al.*, 2020). Los $RA\alpha_1$ son susceptibles de procesos de desensibilización e internalización. La desensibilización del receptor conduce a una respuesta menor ante la unión sostenida de un agonista (desensibilización homóloga), o por la sobreactivación de agentes implicados en la vía de señalización (desensibilización heteróloga). Por otro lado, la internalización es promovida por la fosforilación de receptor por agonistas. La internalización del receptor inicia con la reclutación de β arrestinas que bloquean estéricamente la interacción con proteínas G. La internalización a su vez da lugar a una señalización de tipo reguladora *switch* que favorece la interacción con la maquinaria endocítica donde participan la clatrina, el complejo adaptador AP2, las dinaminas y las proteínas Rab (De los Santos *et al.*, 2020).

Diversas condiciones como la hipoxia, lesiones por isquemia y reperfusión, estimulación por catecolaminas y factores de crecimiento son capaces de regular a nivel transcripcional la expresión del $RA\alpha_1$ como se muestra en la tabla 4. Experimentalmente, las lesiones vasculares y el microambiente inflamatorio se han asociado con un aumento en la expresión del $RA\alpha_1$. En particular, la hipertensión arterial se ha asociado fuertemente a un incremento en la señalización del $RA\alpha_{1D}$ y su activación sostenida incrementa el calibre vascular y la síntesis de proteínas como canales de potasio sensibles a calcio, canales de calcio dependientes de voltaje y MCL (Méndez *et al.*, 2018).

El factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF-BB) inhibe la transcripción del gen del $RA\alpha_{1D}$ en SMC. Su aumento ha sido asociado con los procesos de lesión y

reparación de la pared vascular, constituyendo un vínculo entre la activación del SNS y las lesiones vasculares (Xin *et al.*, 1999). El PDGF-BB también ha mostrado modular el fenotipo vascular en la diabetes, específicamente en la expresión de proteínas contráctiles vía mTORC1 (Ha *et al.*, 2015). Además, el incremento en sus niveles ha sido correlacionado con la progresión de la nefropatía diabética (Suzuki *et al.*, 2011).

Tabla 4. **Inductores de la expresión de receptores α_1 adrenérgicos**

Receptor adrenérgico	Inductor $\uparrow$	Células
α_1	Neuropatía diabética	Queratinocitos, células del músculo liso (Schlereth <i>et al.</i> , 2021)
	Quemaduras, queloides	Fibras nerviosas de la dermis, vasos sanguíneos (Drummond <i>et al.</i> , 2018)
	Carcinoma de células escamosas de la cavidad oral	Saliva (Gholizadeh <i>et al.</i> , 2021)
α_{1A}	Atorvastatin e insulina	Aorta (Zhou <i>et al.</i> , 2019)
α_{1B}	Factor de necrosis tumoral alfa TNF- α	Queratinocitos (Wijaya <i>et al.</i> , 2020)
	Interleucinas; IL-1 β , IL6, IL8, factor de crecimiento nervioso, noradrenalina	Útero, endometrio (Wang <i>et al.</i> , 2021)
α_{1D}	Angiotensina II	Aorta torácica de rata (Hu <i>et al.</i> , 1995)

1.6 EL ALCOHOL

El alcohol es una sustancia psicoactiva a pesar de sus propiedades sedantes hipnóticas exhibidas desde sus efectos agudos. El alcohol, en las vías de señalización intracelulares contribuye tanto a efectos directos como a respuestas neuroadaptativas generadas por la exposición repetida, que refuerzan negativamente el consumo continuo de alcohol (Dorit y Messing, 2012).

Los blancos moleculares del alcohol corresponden a proteínas con sitios de unión discretos, estas se unen con una baja afinidad al alcohol en concentraciones de 15 a 150 mM. Los blancos moleculares del alcohol incluyen una enzima para su transformación, la alcohol deshidrogenasa (ADH), activación/inhibición de la adenilato ciclasa, inhibición de canales iónicos del tipo N-methyl-D-aspartato (NMDA), canales de calcio, canales de sodio, y receptores de glutamato, mientras su unión a los canales de tipo ácido γ -aminobutírico (GABA_A), canales de potasio, receptores de glicina y receptor de 5-HT₃ (5-hydroxytryptamina tipo 3) induce una potenciación de su actividad (Harris *et al.*, 2008).

La absorción del alcohol puede tener lugar desde la cavidad bucal y el estómago, la mayor parte se absorbe en el intestino y desde allí pasa a la circulación sanguínea; alrededor del 95% es metabolizado a través del hígado y el porcentaje restante es excretado a través de la exhalación, sudor y orina. En el citosol de los hepatocitos el alcohol es oxidado por la ADH, produciéndose acetaldehído y nicotinamida adenina dinucleótido reducido (NADH) (Simon y Molina, 2022). La reoxidación del complejo ADH-NADH es el paso limitante en esta reacción, ya que el NADH generado debe dirigirse, vía la lanzadera malato-aspartato, a la cadena transportadora de electrones. En la mitocondria, el

acetaldehído es transformado por la acetaldehído deshidrogenasa (ALDH) en acetato, produciendo NADH con lo que también contribuye a la alteración de la bioenergética celular. El acetato puede ser incorporado en el ciclo de Krebs representando el origen del aporte calórico del alcohol (7 kcal/g). Otros sistemas también pueden contribuir en menor grado a la metabolización del alcohol (10 %), incluyendo enzimas microsomales en el retículo endoplásmico (RE), la enzima catalasa en peroxisomas y el citocromo P450 2E1 (CYP2E1), el cual convierte el etanol en acetaldehído produciendo especies reactivas de oxígeno (ROS) (Le Daré *et al.*, 2019).

1.6.1 EL ALCOHOL Y SU RELACIÓN CON EL RIESGO CARDIOVASCULAR

Los efectos experimentados por el consumo de alcohol dependen de la cantidad ingerida y el patrón de consumo, expresado como el tiempo y frecuencia de consumo. El estado de embriaguez en los individuos se define por el consumo de 5 tragos estándar con un contenido de aproximado de 14 g de etanol cada uno, en un periodo de dos horas. En la literatura se han reportado efectos cardiovasculares dependientes de la dosis, benéficos a bajas dosis, perjudiciales en altas dosis de alcohol en periodos prolongados, conciliándose un patrón de forma de “J” de los efectos benéficos sobre los perjudiciales del consumo de alcohol en el riesgo cardiovascular (Minzer *et al.*, 2020).

Experimentalmente, el consumo agudo de alcohol induce un aumento transitorio de la presión arterial, este incremento es revertido al detener el consumo de alcohol favoreciéndose la disminución de sus niveles en la circulación sanguínea (Day y Rudd, 2019; Toda y Ayajiki, 2010). El acetaldehído el primer producto oxidativo del alcohol es

una molécula altamente tóxica hasta 10 veces más que el alcohol, y es considerado responsable del efecto vasodilatador apreciado horas posteriores al consumo de alcohol (Wakabayashi 2008). En adultos saludables que consumen cantidades de etanol bajas a moderadas <12 g de alcohol por día, no se aprecia un impacto sustancial en la presión arterial. Sin embargo, repetidas investigaciones muestran que más de 5 tragos estándar (>50 g) en un mismo evento se asocian con el incremento transitorio en la presión sanguínea en un rango de 4 a 7 mmHg en la presión arterial sistólica y de 4 a 6 mmHg en la presión arterial diastólica (Pareek y Olsen, 2017; Tirapelli *et al.*, 2007).

El consumo crónico de moderado a alto se acompaña con el establecimiento de hipertensión arterial, arritmias, infarto al miocardio y falla cardíaca. La hipertensión arterial atribuida al consumo de alcohol ha sido asociada con respuestas contráctiles incrementadas, dependientes de la dosis a vasoconstrictores *in vivo*, y una reactividad incrementada en arterias aisladas *ex vivo*. Por lo que se sugiere que el alcohol y el acetaldehído aumentan la sensibilidad de las respuestas vasoconstrictoras intrínsecas a través de la activación de los receptores $\alpha 1$ adrenérgicos y los receptores a vasopresina (Eby y Majetschak, 2019).

1.6.2 RELACIÓN ENTRE EL CONSUMO DE ALCOHOL Y LA DIABETES

El desarrollo de la diabetes en animales y en humanos como consecuencia del consumo crónico de alcohol es un fenómeno reconocido en estudios observacionales como Comunidades en Riesgo de Aterosclerosis y el Estudio de la Salud del Adolescente y Estudio del Hospital Toranomom para el Manejo de Salud (Polsky y Akturk, 2017),

considerándose un factor de riesgo independiente en su desarrollo. Las células pancreáticas β actúan como sensores de los niveles de glucosa plasmática, en respuesta a un incremento aceleran su metabolismo, incrementando los niveles de ATP e inhibiendo los canales de potasio sensibles a ATP, conduciendo a la despolarización de la membrana, ingreso de calcio y secreción de insulina (Hwang *et al.*, 2019). Las células β del páncreas son capaces de liberar el ácido γ -aminobutírico (GABA) y expresan funcionalmente su receptor GABA_AR_s; la estimulación de este receptor ha mostrado prevenir y revertir la diabetes promoviendo el crecimiento y la sobrevivencia de las células pancreáticas β en ratones. El GABA_AR_s, representa un blanco altamente sensible a las acciones del alcohol. En altas concentraciones de alcohol, la expresión de los GABA_AR_s en la membrana de las células pancreáticas β disminuye, promoviendo su internalización e induciendo una disminución en los niveles basales de insulina a una concentración plasmática de alcohol de 50 mM (Wang *et al.*, 2014). Adicionalmente, el consumo crónico de alcohol ha mostrado efectos directos en el páncreas, induciendo modificaciones en la morfología celular, la senescencia de las células β pancreáticas e incremento de la apoptosis, ocasionando una reducción de la masa pancreática y agravando la progresión de la diabetes (Luo *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2021).

Aunque el consumo de alcohol, ha mostrado un efecto benéfico/perjudicial en la sensibilidad de las células a la insulina y se han propuesto múltiples mecanismos de acción, los hallazgos continúan siendo controversiales (Nova *et al.*, 2019). Existen evidencias de que el consumo de bajas dosis <15 g por día inciden en una disminución del riesgo de desarrollar diabetes, mientras que el consumo mayor a 5 tragos estándar por día incrementa 2 veces el riesgo de desarrollar diabetes. En individuos diabéticos la actividad de la ALDH disminuye, conduciendo a la acumulación de acetaldehído y aldehídos reactivos,

aumentando hasta dos veces el riesgo del deterioro de la salud. El alto consumo de alcohol en individuos diabéticos se ha correlacionado con el desarrollo y agravamiento de complicaciones vasculares (Munukutla *et al.*, 2016) y mayores índices de mortalidad (Polsky y Akturk, 2017).

Blomster en el 2014, proporcionó evidencia epidemiológica de la implicación del consumo de alcohol en la DMII en la incidencia de eventos cardiovasculares, complicaciones vasculares de la diabetes y mortalidad. Propone un patrón en forma de “U” entre el consumo de alcohol en individuos afectados por diabetes y el desarrollo de eventos cardiovasculares (Blomster *et al.*, 2014). Este patrón de consumo es consistente con las observaciones de Valerio en el 2019 en pacientes que consumían alcohol afectados por DMI sobre el riesgo de complicaciones microvasculares en la diabetes, resaltando la etapa de la pubertad como de especial susceptibilidad a los efectos negativos del alcohol (Valerio *et al.*, 2019). En el presente estudio se evaluará el efecto de la administración de alcohol en ratas con diabetes experimental sobre la respuesta vascular α_1 adrenérgica.

2. JUSTIFICACIÓN

La coexistencia de diabetes mellitus e hipertensión arterial es frecuente. Su establecimiento y progresión se acompañan de defectos en la contractilidad y relajación vascular, en los que ha sido propuesta una participación central de la respuesta vascular α_1 adrenérgica a través de modificaciones en la función/expresión del $RA\alpha_{1D}$. Los efectos del consumo de alcohol sobre la respuesta vascular α_1 adrenérgica en la progresión de la diabetes no han sido completamente definidos. El asunto de fondo de investigación del presente trabajo es dilucidar el efecto del etanol en la respuesta vascular adrenérgica α_1 en ratas con diabetes experimental.

3. HIPÓTESIS

El consumo crónico de alcohol aumenta la respuesta vascular adrenérgica α_1 en ratas diabéticas.

4. OBJETIVO GENERAL

Determinar los efectos del consumo crónico de alcohol sobre la respuesta vascular adrenérgica α_1 en ratas con diabetes experimental.

4.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Analizar los efectos del consumo crónico de alcohol sobre la presión arterial en ratas con diabetes experimental.
- Determinar los efectos del alcohol sobre la contractilidad adrenérgica α_1 en la aorta de ratas con diabetes experimental.
- Determinar el subtipo de receptores α_1 que participa en la respuesta contráctil de la aorta de ratas con diabetes experimental.
- Determinar los efectos del alcohol en los niveles de proteína del receptor adrenérgico α_{1D} en aorta de ratas con diabetes experimental.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 MATERIAL BIOLÓGICO

Se utilizaron ratas macho Wistar (300-350 g) del bioterio del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, resguardadas con ciclos de luz-oscuridad de 12 horas con una temperatura constante de 25 ± 2 °C, con alimento y agua *ad libitum*. El manejo de los animales se llevó a cabo conforme las normas éticas de manejo y uso de animales en investigación, de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) y del Comité de Bioseguridad y Bioética del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

5.2 INDUCCIÓN DE DIABETES Y ADMINISTRACIÓN DE ALCOHOL

Se formaron al azar cuatro grupos experimentales (n=6 por grupo): 1) Control, se le administró el vehículo (buffer de citratos; 0.1 M; pH 4.5) vía intraperitoneal (i.p.), 2) Diabético, se le administró una dosis (50 mg/kg de peso) de estreptozotocina (STZ) en vehículo, vía i.p., 3) Etanol, se le administró una dosis diaria de etanol (3 g/kg de peso) diluido al 40 % V/V vía oral durante 21 días y vehículo vía i.p., y 4) Diabético-etanol, se le administró STZ en vehículo vía i.p. y una dosis diaria de etanol (3 g/kg de peso) diluido al 40 % V/V, vía oral, durante 21 días. Los animales se consideraron diabéticos al presentar concentraciones superiores a 150 mg/dL de glucosa sérica en ayuno, 7 días después de la administración de la STZ.

5.3 MEDICIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL

La presión sistólica y diastólica se midieron en la cola de las ratas mediante un método pletismográfico no invasivo con un instrumento CODA monitor (Kent Scientific Co.). Los animales fueron sometidos a un proceso de acondicionamiento previo por 16 días, midiendo diariamente la presión arterial, posteriormente se realizó la medición semanal de la presión arterial hasta la culminación del experimento.

5.4 ENSAYO FUNCIONAL DE AORTA

Al final del tratamiento los animales se sacrificaron con una dosis (55 mg/kg) de pentobarbital sódico vía i.p. y se extrajo la arteria aorta y se retiró el tejido conectivo y graso circundante. La arteria aorta aislada se cortó en anillos de 3-4 mm de largo; a la mitad de los anillos se les removió el endotelio por frotamiento delicado de la superficie interna de la arteria con un estilete metálico de superficie rugosa. Cada anillo arterial se montó en dos ganchos Nikrom, uno para fijarse al fondo de la cámara y el otro unido a un transductor de tensión (Grass FT03 force displacement transducer; Astro-Med, Inc., West Warwick, R.I., USA), conectado a un sistema de adquisición de datos (MP100 Biopac Systems Inc., Santa Barbara, Cal., USA), para registrar cambios en la tensión isométrica desarrollada por los anillos arteriales. Los anillos aórticos se dispusieron en cámaras para órgano aislado con un volumen de 10 mL de una solución Krebs-Henseleit (mmol/L): NaCl, 118; KCl, 4.7; KH_2PO_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; NaHCO_3 , 25.0; dextrosa, 11.7, y EDTA, 0.026. Las cámaras para órgano aislado se mantuvieron a 37 °C, pH 7.4 con

burbujeo constante de una mezcla de 95% O₂ conteniendo 5% CO₂. Se permitió un periodo de estabilización de 30 min para la construcción de una curva control de concentración respuesta fenilefrina de 1x10⁻⁹ a 3.1x10⁻⁵ M.

5.5 DETERMINACIÓN DE LA CE₅₀ Y pA₂

Los valores de la CE₅₀ (concentración efectiva 50) o PD₂ (-Log CE₅₀) se determinaron por medio de un análisis de regresión no lineal, con el programa WinNonlin Professional Edition (versión 2.1, Palo alto, California USA). Dicho análisis emplea un modelo sigmoidal para el ajuste de las curvas concentración respuesta, de acuerdo a la ecuación:

$$E = E_{max}[A]^m/[A] + [CE_{50}]$$

Donde, E representa el efecto farmacológico; A la concentración del agonista; E_{max}, m y CE₅₀ representan los parámetros de asíntota, pendiente y localización, respectivamente. Los valores de pA₂ se obtuvieron por medio de un análisis de Schild (Arunlakshana y Schild, 1959) empleando el software PHARMA/PCS (Springer Verlag, Nueva York, 1986).

5. 6 INMUNODETECCIÓN DEL RECEPTOR ADRENÉRGICO α_{1D}

Las aortas extraídas se conservaron a -80 C°. Para su procesamiento se cortaron, permaneciendo en hielo en un *buffer* de lisis (Tris 100 mM pH 7.4) con un inhibidor de proteasas (Complete protease inhibidor cocktail, Merck Millipore) por 30 minutos. Las aortas se procesaron individualmente con ayuda de un homogenizador (Polytron: Dragon

Lab) y se centrifugarán 10 minutos a 14000 rpm a 4 C°. La concentración de proteínas del sobrenadante se determinó con el Método modificado de Bradford Kruger (1994). La inmunodetección de las proteínas se realizó de acuerdo a los protocolos de Laemmli (1970) y Towbin (1979). Se tomaron 50 µg de proteína de las muestras de aorta con buffer de carga Laemmli 2X con β-mercaptoetanol recién preparado y se desnaturalizaron manteniéndose por 10 min en ebullición. Junto con un marcador de peso molecular (Precisión Plus Protein Standards, Bio Rad) las muestras se sometieron a electroforesis en geles de poliacrilamida al 10 % bajo condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE) durante 3 h a 100 V.

Posteriormente, las proteínas fueron transferidas a una membrana de PVDF (fluoruro de polivinildieno, Hybond-P de Amersham), empleando un equipo de transferencia húmedo durante 60 min a 100 V, empleando la solución de transferencia (25 mM de Tris, 192 mM de glicina, 20% de metanol). Una vez transferidas las proteínas, se mantuvieron las membranas con una solución TBS-T (10 mM de Tris/HCl, 150 mM de NaCl, 0.05% de Tween 20), con leche al 5% 1 h. Las membranas se incubaron con los anticuerpos primarios anti-receptor adrenérgico α 1D (~47 kDa) dilución (1:5000) y a anti-β-actina (~43 KDa) (1:5000), en TBS-T - leche 5% durante 90 min a temperatura ambiente. Se lavaron 4 veces con TBS-T por 10 min y se incubaron con el anticuerpo secundario IgM acoplado a peroxidasa diluido (1:10,000) en TBS-T - leche 5% durante 2 h a temperatura ambiente. Posteriormente se realizaron 4 lavados con la solución TBS-T y se incubaron con sustrato Sustrato Immobilon quimoiluminiscente de HRP para transferencias Western para la visualización de las bandas empleando un fotodocumentador (Gel Doc XR

System Bio-Rad), mientras la intensidad de señal en las bandas se realizó mediante un análisis densitométrico usando el programa Image J software.

5.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fueron analizados empleando el programa Sigma plot 12.0. Los datos se expresaron como la media $\pm$ el error estándar de al menos 6 animales. Para determinar diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) se realizaron análisis de varianza de dos vías, seguida de la prueba Post-hoc de Tukey.

6. RESULTADOS

6.1 EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE ALCOHOL SOBRE EL CONSUMO DE AGUA Y ALIMENTO

Se cuantificó el consumo de agua y alimento (**Tabla 5**), y se observó que en los grupos diabético y diabético-etanol presentaron la polidipsia y la polifagia, síntomas característicos de la diabetes. Por otro lado, en el grupo etanol no se mostraron diferencias significativas con respecto al grupo control.

Tabla 5. Efecto de la administración de alcohol sobre el consumo de agua y alimento. Valores del consumo de alimento (g) y agua (mL) en el día 28 del experimento en ratas control, tratadas con etanol, diabéticas y diabéticas tratadas con etanol. Los valores son expresados como el promedio $\pm$ el error estándar ($n = 6$). ANOVA de dos vías seguido de una prueba múltiple Tukey, * $p < 0.05$ vs. control; # $p < 0.05$ vs. etanol.

Grupo	Consumo de alimento (g)	Consumo de agua (mL)
Control	18.93 $\pm$ 1.86	24.75 $\pm$ 2.4
Etanol	17.26 $\pm$ 1.42	24.62 $\pm$ 2.63
Diabético-etanol	24.58 $\pm$ 1.23 #	45.36 $\pm$ 3.2*
Diabético	26.32 $\pm$ 2.21*	44.88 $\pm$ 4.3*

6.2 EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE ALCOHOL SOBRE EL PESO DE LOS ANIMALES

Se registró el peso de los animales de manera semanal. Se observó un aumento de peso conforme avanzó la edad de las ratas del grupo control, mientras que la administración de alcohol en la segunda semana incidió en una disminución del peso de los animales (Figura 3). Además, el grupo diabético mostró un peso menor con referencia al grupo control; mientras que el grupo diabético-etanol redujo significativamente su peso con respecto al grupo diabético a partir de la segunda semana de administración de alcohol.

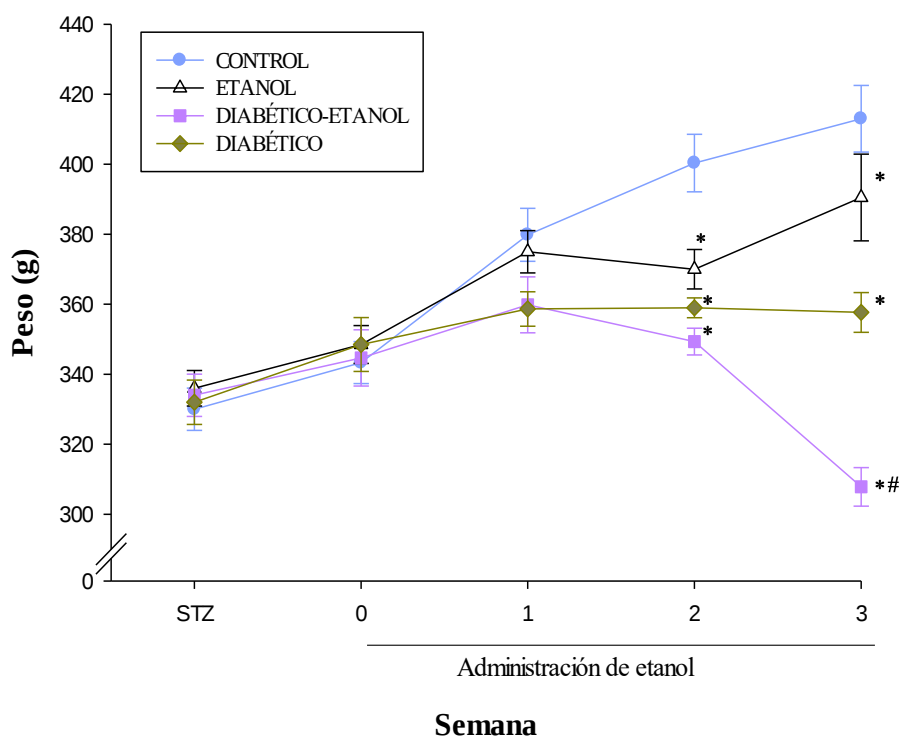


Figura 3. Efecto de la administración de alcohol sobre el peso de los animales. Valores de peso (g) de ratas control, administradas con etanol, diabéticas y diabéticas administradas con etanol. Los valores son expresados como el promedio $\pm$ el error estándar ($n = 6$). ANOVA de dos vías seguido de una prueba múltiple Tukey, $*p < 0.05$ vs. control; $\#p < 0.05$ vs. etanol.

6.3 EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE ALCOHOL SOBRE LOS NIVELES DE GLUCOSA EN SANGRE

Los niveles de glucosa en los grupos diabético y diabético-etanol mostraron un incremento de casi 6 veces con respecto al grupo control (normoglucémico), mientras que el grupo etanol no mostró un incremento en los niveles de glucosa respecto al grupo control (Figura 4).

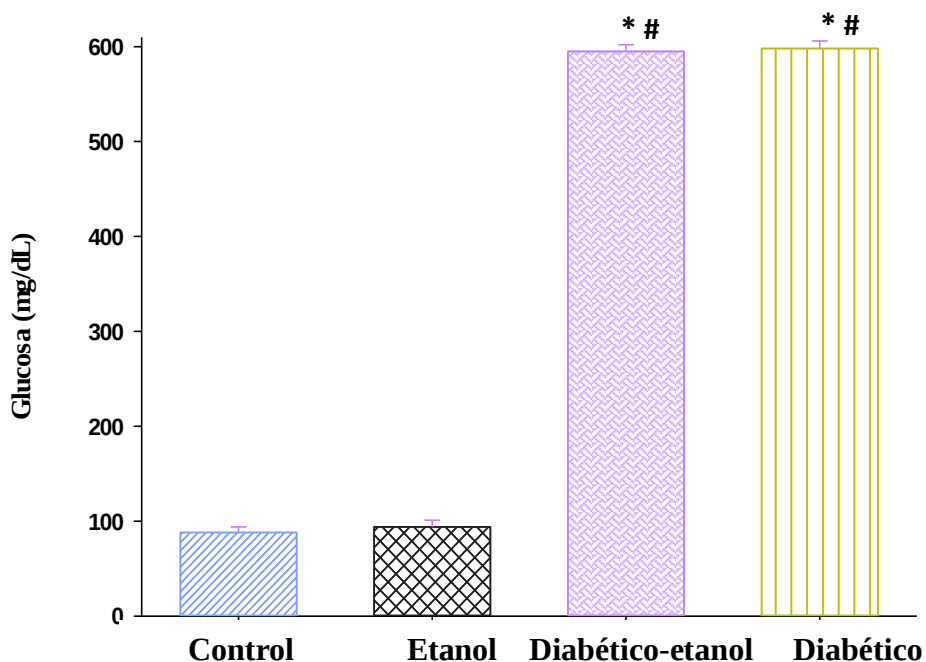


Figura 4. Efecto de la administración de alcohol sobre los niveles de glucosa en sangre. Niveles de glucosa sanguínea el día 22 de la administración de alcohol. Valores de glucosa en sangre (mg/dL) en ratas control, tratadas con etanol, diabéticas y diabéticas tratadas con etanol. Los valores son expresados como el promedio $\pm$ el error estándar ($n = 6$). ANOVA de dos vías seguido de una prueba múltiple Tukey, * $p < 0.05$ vs. control; # $p < 0.05$ vs. etanol.

6.4 EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE ALCOHOL SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL

Se observó un aumento de la presión arterial sistólica (PAS) en el grupo diabético y diabético etanol. Mientras que en el grupo etanol también se observó un incremento en la PAS llegando a niveles equiparables a los de los grupos diabéticos (Figura 5A). Los valores de la presión arterial sistólica (PAD) aumentaron significativamente en el grupo diabético respecto al grupo control, mientras que los grupos etanol y diabético-etanol mostraron una tendencia al incremento sin ser significativa estadísticamente con respecto al grupo control (Figura 5B).

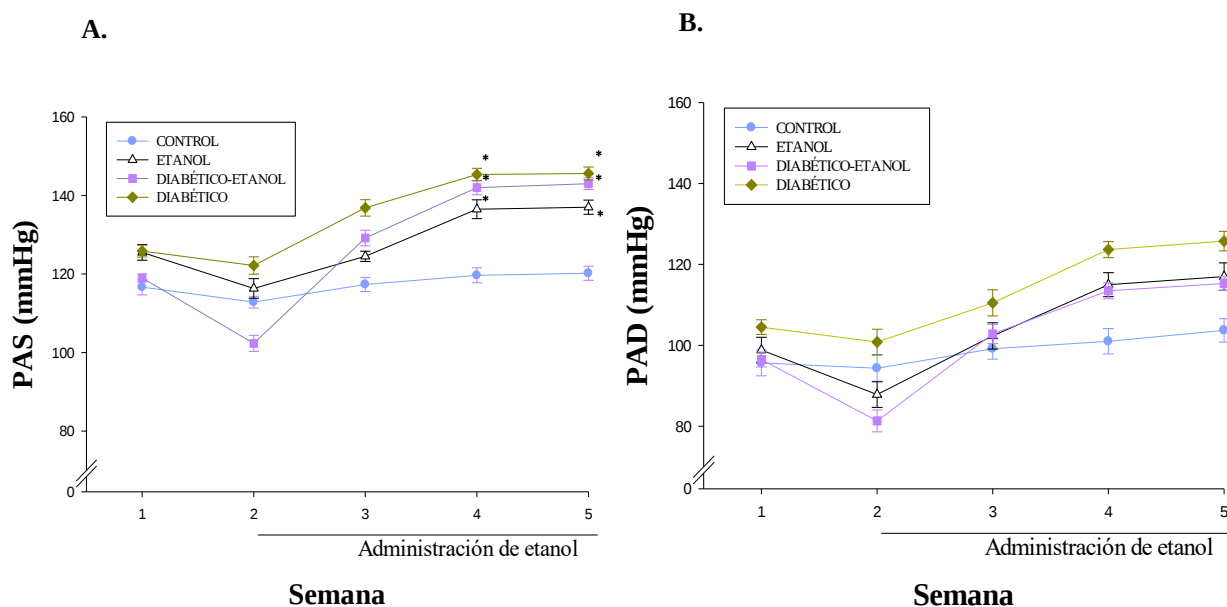


Figura 5. Efecto de la administración de alcohol sobre la presión arterial. Valores de la presión arterial (mmHg) **A.** Presión arterial sistólica (PAS), **B.** Presión arterial diastólica (PAD) de ratas control, administradas con etanol, diabéticas y diabéticas administradas con etanol. Los valores son expresados como el promedio $\pm$ el error estándar ($n = 6$). ANOVA de dos vías seguido de una prueba múltiple Tukey, * $p < 0.05$ vs. control.

6.5 CURVAS DE CONCENTRACIÓN RESPUESTA A LA FENILEFRINA EN LA AORTA

La administración de alcohol disminuyó la respuesta vascular adrenérgica α_1 en el grupo diabético-etanol con respecto al grupo etanol (figura 6), en el mismo sentido el grupo diabético mostro una menor contractilidad respecto al grupo control, esto en los anillos de aorta sin endotelio (E-). En los anillos con endotelio (E+) por otra parte, no se apreciaron diferencias significativas entre los diferentes grupos.

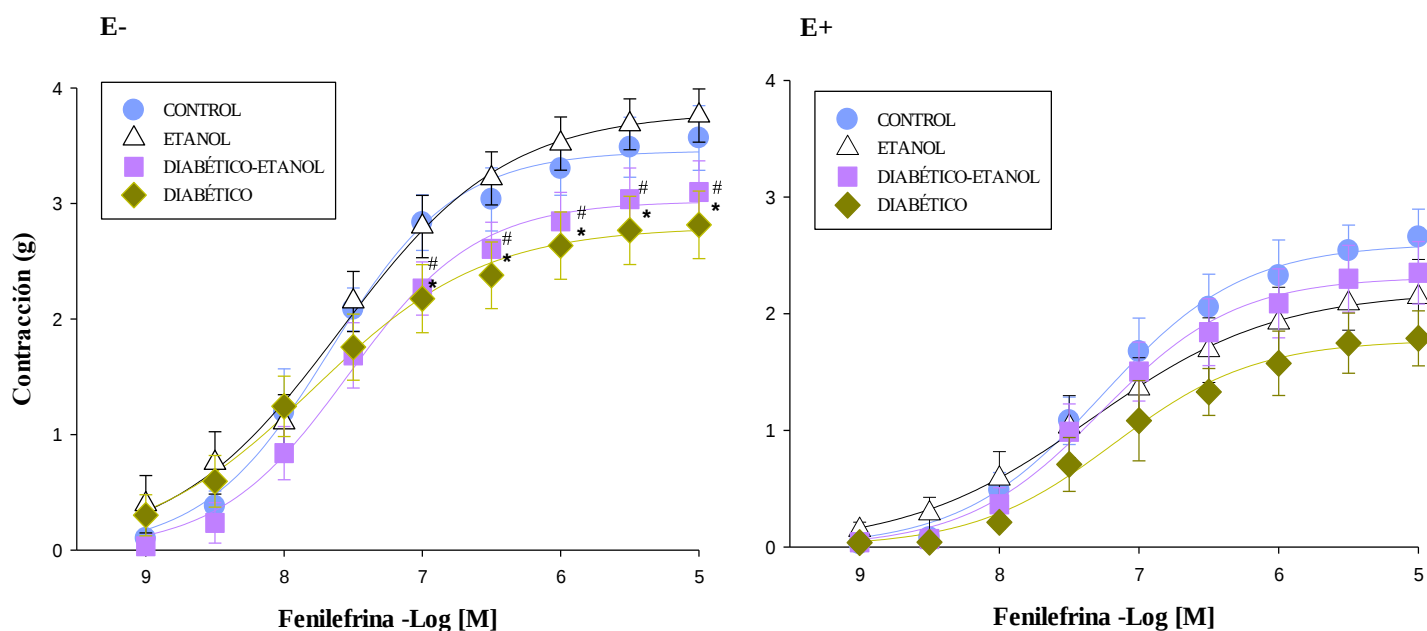


Figura 6. Efecto de la administración de alcohol sobre la contractilidad α_1 adrenérgica. Curvas de concentración respuesta a fenilefrina. E- anillos de aorta sin endotelio, E+ anillos de aorta con endotelio de ratas control, tratadas con etanol, diabéticas y diabéticas-etanol. Los valores son expresados como el promedio $\pm$ el error estándar (n = 6). ANOVA de dos vías seguido de una prueba múltiple Tukey, * $p < 0.05$ vs. control; # $p < 0.05$ vs. etanol.

6.6 EFECTOS MÁXIMOS A LA FENILEFRINA

En la tabla 6 se muestra que el efecto máximo del grupo diabético disminuyó con respecto al grupo control, mientras que el efecto máximo del grupo diabético-etanol disminuyó con respecto al grupo etanol en los anillos de aorta sin endotelio. Mientras que en los anillos de aorta con endotelio no se encontraron diferencias significativas.

Tabla 6. Respuesta contráctil máxima a la fenilefrina en aorta (con y sin endotelio) de ratas control, tratadas con etanol, diabéticas y diabéticas tratadas con etanol. Los valores son expresados como el promedio $\pm$ el error estándar (n = 6). ANOVA de dos vías seguido de una prueba múltiple Tukey, * $p < 0.05$ vs. control; # $p < 0.05$ vs. etanol.

E_{máx}	E+	E-
Control	2.62 $\pm$ 0.12	3.5 $\pm$ 0.15
Etanol	2.17 $\pm$ 0.14	3.76 $\pm$ 0.17
Diabético Etanol	2.35 $\pm$ 0.9	3.02 $\pm$ 0.11#
Diabético	1.98 $\pm$ 0. 16	2.81 $\pm$ 0.8*

6. 7 DETERMINACIÓN DE LA POTENCIA DEL ANTAGONISTA BMY 7378 EN LA AORTA

La (figura 7), muestra las curvas de concentración-respuesta en ausencia y presencia de concentraciones crecientes de BMY 7378, un antagonista selectivo del receptor α_{1D} en la aorta de ratas control. Se observa que el BMY 7378 produjo un desplazamiento de las curvas de fenilefrina a la derecha (ocupación del BMY7378 de los sitios de unión del receptor α_{1D}); alcanzando un 80 % del Emáx. En la tabla 7 (encontrada más adelante) se muestra que los valores obtenidos de afinidad aparente fueron altos, lo que sugiere la participación del receptor α_{1D} en la respuesta contráctil.

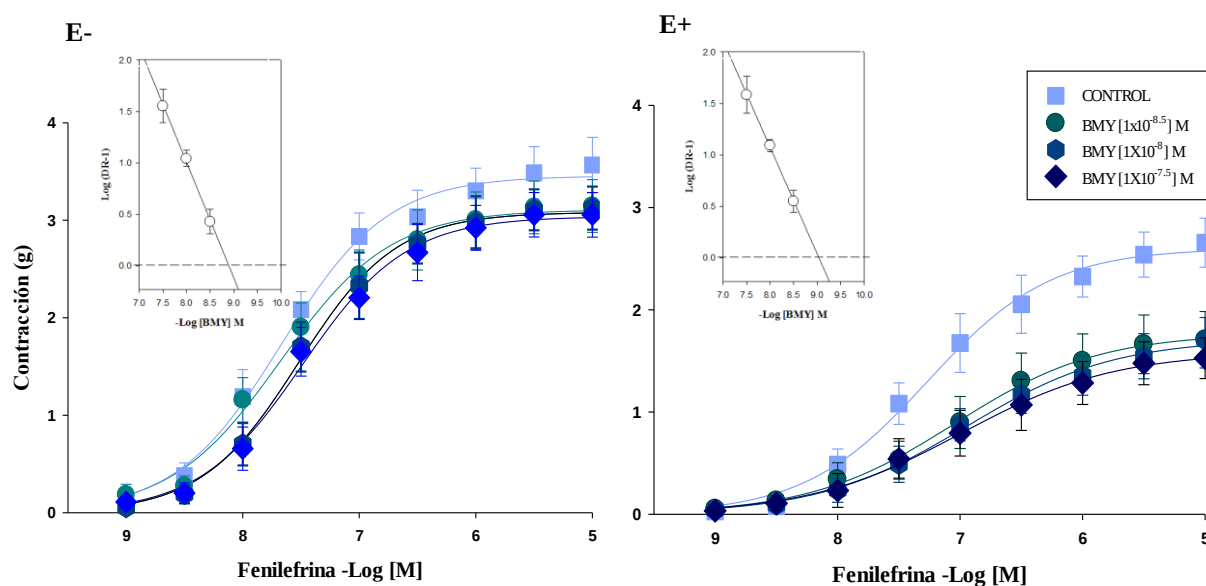


Figura 7. Curvas de concentración respuesta a la fenilefrina en condiciones control y en presencia de concentraciones crecientes de BMY 7378, en E- anillos de aorta sin endotelio y E+ anillos de aorta con endotelio de ratas control. En la esquina superior izquierda se presenta la regresión de Schild (n = 6).

La (figura 8) muestra las curvas de concentración-respuesta en ausencia y presencia de concentraciones crecientes de BMY 7378 en la aorta de ratas administradas con etanol. Se observa que el BMY 7378 produjo un desplazamiento mayor de las curvas de fenilefrina a la derecha, lo que sugiere una posible distribución funcional diferencial del receptor α_{1D} en la membrana plasmática de la aorta del grupo etanol comparado con el grupo control y los valores obtenidos de afinidad aparente fueron altos (Tabla 7).

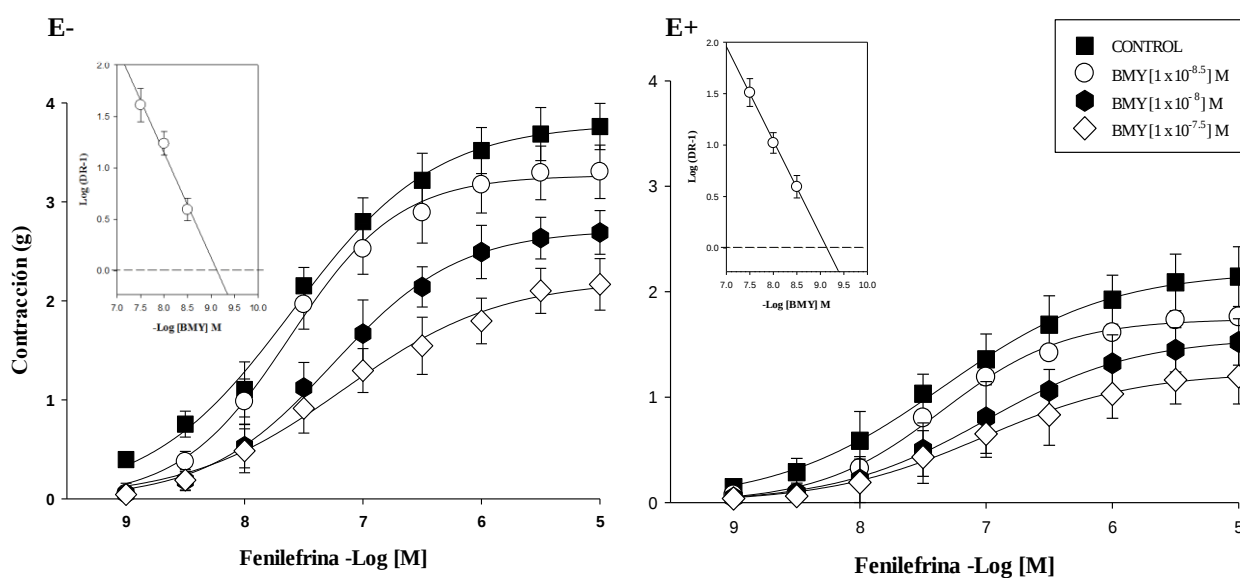


Figura 8. Curvas de concentración respuesta a la fenilefrina en condiciones control y en presencia de concentraciones crecientes de BMY 7378, en E- anillos de aorta sin endotelio y E+ anillos de aorta con endotelio de ratas administradas con etanol ($3 \text{ g}^{-1} \text{ día}^{-1}$, 21 días p.o.). En la esquina superior izquierda se presenta la regresión de Schild ($n = 6$).

La (figura 9) muestra las curvas de concentración-respuesta en ausencia y presencia de concentraciones crecientes de BMY 7378, en la aorta de ratas diabéticas administradas con etanol. Se observa que el BMY 7378 produjo un desplazamiento menor de las curvas de fenilefrina a la derecha, lo que sugiere una posible distribución funcional diferencial del receptor α_{1D} en la membrana plasmática de la aorta del grupo diabético-etanol comparado con el grupo etanol. Los valores obtenidos de afinidad aparente fueron altos (Tabla 7).

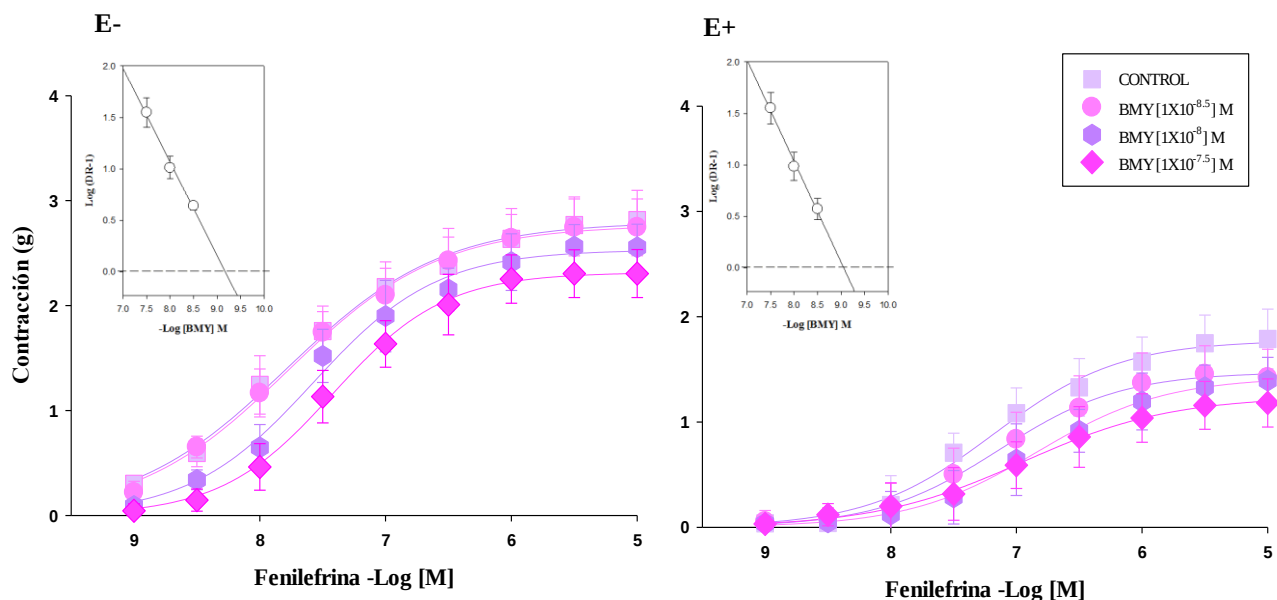


Figura 9. Curvas de concentración respuesta a la fenilefrina en condiciones control y en presencia de concentraciones crecientes de BMV 7378, en E- anillos de aorta sin endotelio y E+ anillos de aorta con endotelio de ratas diabéticas administradas con etanol (3 g⁻¹ día⁻¹, 21 días p.o.). En la esquina superior izquierda se presenta la regresión de Schild (n = 6).

La (figura 10) muestra las curvas de concentración-respuesta en ausencia y presencia de concentraciones crecientes de BMY 7378. Se observa que el BMY 7378 produjo un desplazamiento mayor de las curvas de fenilefrina en la concentración más baja de BMY 7378 ($1 \times 10^{-8.5}$ M), lo que sugiere una posible distribución funcional diferencial del receptor α_{1D} en la membrana plasmática de la aorta del grupo diabético comparado los otros grupos experimentales. Los valores obtenidos de afinidad aparente fueron altos (Tabla 7).

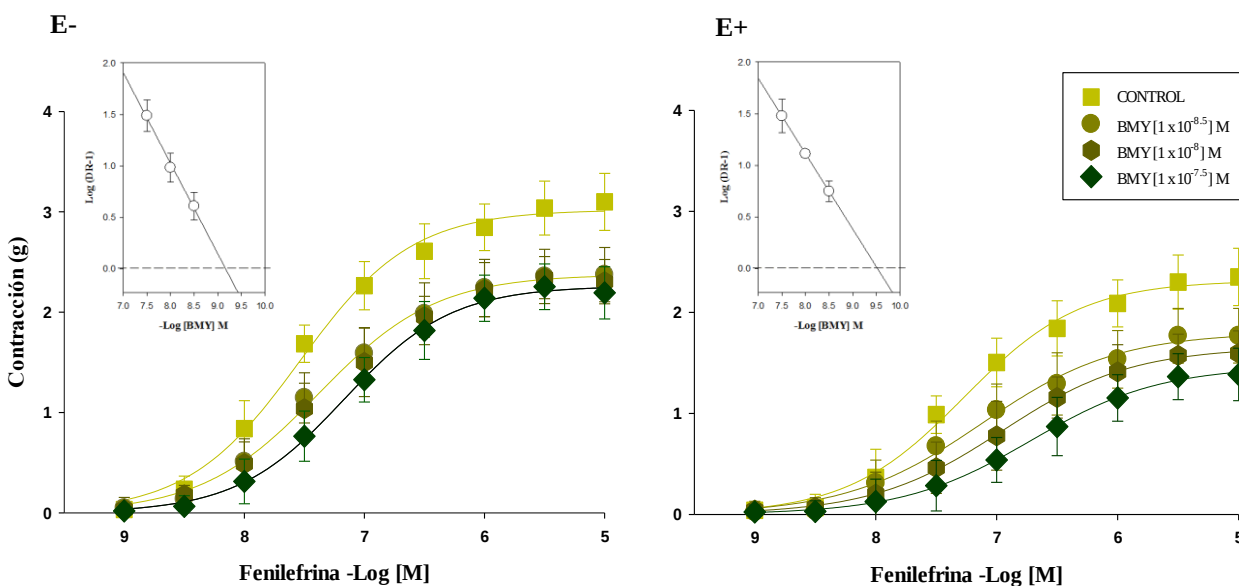


Figura 10. Curvas de concentración respuesta a la fenilefrina en condiciones control y en presencia de concentraciones crecientes de BMY 7378, en E- anillos de aorta sin endotelio y E+ anillos de aorta con endotelio de ratas diabéticas. En la esquina superior izquierda se presenta la regresión de Schild ($n = 6$).

6.8 AFINIDAD APARENTE

El valor de pA_2 representa el logaritmo negativo de base 10 de la concentración molar del antagonista (BMY 7378) que hace necesario duplicar la concentración del agonista (fenilefrina) para conseguir la respuesta original submáxima, obtenida en ausencia del antagonista (ocupación el 50 % de los receptores involucrados funcionalmente de la respuesta evaluada).

Los valores de pA_2 obtenidos fueron altos y no se observaron diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 7. Afinidad aparente de BMY 7378 por el receptor α_{1D} en arteria aorta de ratas control, tratadas con etanol, diabéticas y diabéticas tratadas con etanol (n = 5-6). Los datos fueron analizados en el software Winnolin y PHARM/PCS.

pA_2	E+	E-
Control	8.62	8.28
Etanol	9.06	8.92
Diabético Etanol	9.62	8.83
Diabético	9.34	8.72

6.9 DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR ADRENÉRGICO

α_{1D} EN LA AORTA

Se observó una primera banda con un peso molecular de ~50 kDa, correspondiente al peso molecular del receptor α_{1D} y una segunda banda ~43 kDa correspondiente al peso

molecular de la proteína β actina (figura 11). De manera basal, el $RA_{\alpha_{1D}}$ incremento casi 3 veces su expresión en la aorta de ratas diabéticas en comparación del grupo control, etanol y diabético-etanol.

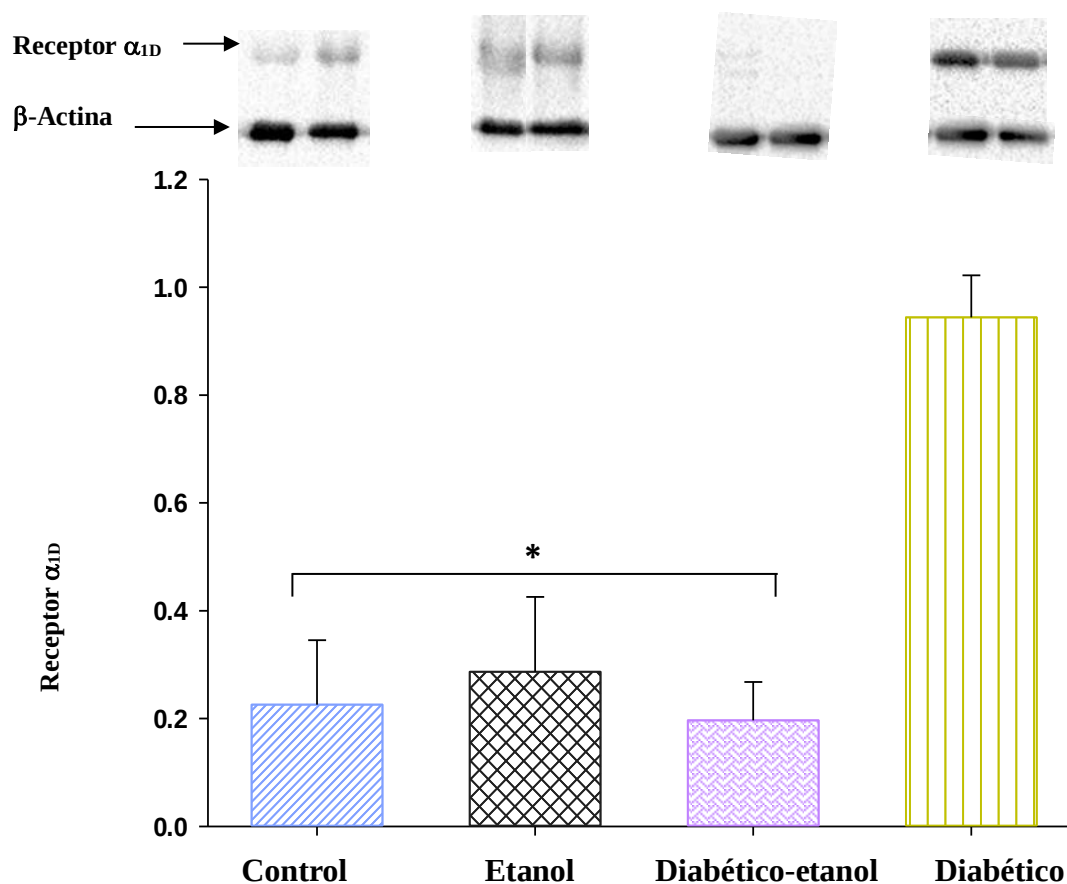


Figura 11. Análisis de Western Blot de la abundancia relativa del receptor α_{1D} en la aorta de ratas control, administradas con etanol, diabéticas y diabéticas administradas con etanol. La figura muestra la intensidad de la banda del receptor α_{1D} en proporción a la intensidad de la banda de una proteína control (β -actina). Las barras representan al promedio $\pm$ el error estándar de 3 animales por grupo y son expresados en unidades arbitrarias (U.A.). En la parte superior se muestran bandas correspondientes a un experimento típico. ANOVA de una vía seguido de la prueba múltiple de Tukey, $*p < 0.05$ vs. el grupo diabético.

7. DISCUSIÓN

México registra una de las prevalencias más altas de diabetes e hipertensión arterial en todo el mundo (Campos-Nonato *et al.*, 2021; INEGI, 2021). En su progresión, estas entidades pueden coexistir y exacerbarse una a la otra, conduciendo al desarrollo de complicaciones vasculares. El alcohol altera la secreción de insulina, promueve un estado de insulinoresistencia y aumenta el riesgo cardiovascular (Tatsumi *et al.*, 2018). Adicionalmente, el estado de embriaguez en individuos diabéticos afecta su nutrición, metabolismo y exacerba la fisiopatología de la diabetes, aumentando la aparición de complicaciones vasculares y conduciendo a una mayor morbilidad y mortalidad (Munukutla *et al.*, 2016).

En este proyecto se evaluó el efecto del alcohol (3 g/kg de peso) sobre la respuesta contráctil adrenérgica α_{1D} en la aorta de ratas con diabetes experimental. Esta dosis corresponde al consumo de ~15 cervezas o 15 shots de 40 mL de bebidas con 40 % alcohol en volumen por un adulto promedio con un peso de 70 kg. El efecto del alcohol en la literatura sobre la presión arterial ha sido reportado como dependiente de la dosis, mientras el consumo de bajas cantidades se asocia con una reducción de los niveles de presión arterial, el consumo de altas cantidades de alcohol repercute en un aumento creciente de la presión arterial en periodos prolongados, este patrón de consumo parece conservarse en la diabetes. Diversas investigaciones han reportado efectos benéficos por el consumo de alcohol en pacientes diabéticos que presentan hipertensión (Fuchs y Fuchs, 2021; Munukutla *et al.*, 2016). Por otro lado, Bomfim y colaboradores (2022) evaluaron los efectos benéficos reportados por el consumo de alcohol en la diabetes y la hipertensión

empleando vino y su equivalente de alcohol en (g). Estos autores demostraron una reducción de la presión arterial sistólica en ratas hipertensas y ratas con diabetes experimental por la administración de vino, no así para su equivalente en alcohol, concluyendo que los efectos benéficos atribuidos al consumo de alcohol dependen del tipo de bebida alcohólica. En este sentido, los efectos benéficos fueron atribuidos a un alto contenido de antioxidantes que actúan atenuando el estrés oxidativo con la consecuente mejora de la función cardiovascular (Bomfim *et al.*, 2022).

En el presente estudio (figura 5) la progresión de la diabetes se acompañó de un aumento de la presión arterial y la administración de una dosis alta (3 g/kg) de alcohol en las ratas diabéticas no incidió en un aumento mayor de la presión arterial sistólica respecto al grupo diabético. Las diferencias no distinguibles en la presión arterial, sugerimos, se deben a que el consumo de alcohol y la progresión de la diabetes afectan sistemas en común que modulan la presión arterial, entre ellos la actividad del SNS periférico. El efecto perjudicial por la administración de alcohol fue observado en el grupo etanol, en el que los niveles de la presión arterial sistólica aumentaron desde la primera semana de administración llegando a niveles equiparables a los del grupo diabético y diabético-etanol. El aumento exhibido en los niveles de la presión arterial en el grupo etanol coincide con las observaciones de que el consumo de alcohol eleva la presión arterial y el ritmo cardíaco horas posteriores a su consumo a través de una sobreactivación del SNS y a una mayor liberación de catecolaminas. Las catecolaminas liberadas inducen el aumento de la presión arterial promoviendo la vasoconstricción y el aumento de la resistencia arterial periférica (Husain *et al.*, 2014).

En el presente estudio la progresión de la diabetes se acompañó de la elevación de la presión arterial, evento en el que sugerimos que la modulación del SNS desempeña una participación esencial. Previamente Zhang y colaboradores (2014) demostraron que la sobreactivación del SNS visceral contribuye al aumento de la presión arterial en ratas y humanos con obesidad o DMII, y que tras ser sometidos a un bypass gástrico la presión arterial desciende a los parámetros normales independientemente de la reducción del peso. Estos autores propusieron que la inhibición de los nervios simpáticos transmite una señal al núcleo del tracto solitario lo que a su vez incide en una disminución de la actividad simpática renal, contractilidad y remodelación vascular (Zhang *et al.*, 2014). En el contexto de la DMI, se ha observado una interacción bidireccional entre la microalbuminuria y modulación del SNS. Además, se ha constatado que la sobreactivación simpática y el desarrollo de hipertensión pueden manifestarse en etapas tempranas de la diabetes incluso en ausencia de la afectación de la actividad renal, lo que sugiere la existencia de neuropatía autonómica. Por consiguiente, proponemos que la presencia de microalbuminuria podría desempeñar un papel significativo en el aumento de la presión arterial evidenciado en los grupos diabético y diabético-etanol (Witte *et al.*, 2005).

Los ensayos funcionales en la aorta muestran que en ratas diabéticas la respuesta contráctil adrenérgica α_1 se encuentra disminuida (Figura 6A), debido probablemente a alteraciones en la expresión o en las vías de señalización de los receptores α_1 . Nuestros resultados concuerdan con lo reportado previamente por Li y colaboradores (2008), quienes observaron una respuesta hipocontráctil a la fenilefrina en las ratas con diabetes experimental con 11 semanas de progresión, sugiriendo la existencia de modificaciones en la vía del IP3 y en la liberación del calcio por el retículo sarcoplásmico, asociando estas

alteraciones con el desarrollo de complicaciones vasculares de la diabetes (Ma *et al.*, 2008). Por otro lado, en contraste con la respuesta hipocontráctil a la fenilefrina observada en este estudio, Pinho y colaboradores (2010) reportaron una repuesta contráctil a la fenilefrina aumentada en la aorta de ratones con diabetes experimental con 9 semanas de progresión, concluyendo que PI3K δ es un punto clave en la transducción de señales que conducen a un aumento de calcio a través de los canales de calcio dependientes de voltaje tipo L por estimulación de los receptores α_1 (Pinho *et al.*, 2010).

Se ha sugerido que la coexistencia de diabetes e hipertensión aumenta el riesgo cardiovascular. Khalili y colaboradores investigaron la respuesta contráctil en la aorta de rata con diabetes experimental e hipertensión renal, mostrando que el padecimiento simultáneo de ambas enfermedades exacerba la disfunción endotelial, en un evento asociado con la hipercontractilidad de los anillos de aorta a la fenilefrina en el que propusieron una sobre-regulación de los AR α_1 en las SMC (Khalili *et al.*, 2012).

La función endotelial en el grupo diabético (figura 6B) no modificó la respuesta α_1 adrenérgica con respecto al control, lo que sugiere que en los resultados de este estudio el endotelio vascular no está modificando la respuesta α_1 adrenérgica. Sin embargo, en la diabetes la alteración de la función endotelial es un evento reconocido. De acuerdo a Yao y colaboradores, las células endoteliales son afectadas desde etapas tempranas de la diabetes al exhibir una memoria metabólica a los periodos transitorios de hiperglicemia (Yao *et al.*, 2022). El endotelio desencadena el daño vascular creando un desequilibrio entre la biodisponibilidad del NO y la acumulación de ROS y RNS que conducen al establecimiento de la disfunción endotelial (Clyne 2021; Kaur y Singh, 2018).

La administración de alcohol a las ratas control y diabéticas mostró un aumento discreto en la contractilidad (figura 6A), sin llegar a ser significativo. Previamente, Döndaş y colaboradores reportaron la contracción del músculo gástrico en ratones por una concentración de 164 mmol/L de alcohol, sugiriendo que la respuesta contráctil inducida depende directamente de las acciones del alcohol sobre el músculo liso, descartando la influencia de un efecto neuronal. Experimentalmente demostraron que la respuesta contráctil está mediada por la activación directa de los canales de calcio dependientes de voltaje tipo L y de la liberación de calcio por el retículo sarcoplásmico (Kaplan, *et al.*, 2009). Esta misma hipótesis ha sido apoyada por la respuesta aumentada a la fenilefrina en la aorta de ratas administradas con alcohol. En este sentido, Tirapelli y colaboradores demostraron que el alcohol induce modificaciones en la respuesta vascular en etapas tempranas de consumo, alrededor de la segunda semana de exposición, subrayando que el aumento en la contractilidad vascular es específica de la respuesta adrenérgica α_1 y se encuentra restringida por la disponibilidad extracelular de calcio (Tirapelli *et al.*, 2006). En la respuesta estimada, proponemos que el tiempo transcurrido tras la última administración de alcohol ~24 horas, engloba los efectos de los metabolitos del alcohol (acetaldehído) presentes en la circulación, un efecto atribuido al estado de abstinencia.

La función endotelial del grupo etanol mostró una ligera disminución en la contractilidad vascular respecto al grupo control como se presenta en la (Figura 6B). Esta observación consideramos puede deberse a alteraciones en la función endotelial y a la presencia de mecanismos compensatorios orientados a atenuar o prevenir la elevación de la presión arterial. En contraste con la respuesta contráctil disminuida observada en los anillos de la aorta con endotelio, Mahmoud y colaboradores (2003) reportaron que la

administración del alcohol en ratas espontáneamente hipertensas la respuesta contráctil adrenérgica α_1 aumenta en los anillos de aorta con endotelio. Estos autores sugirieron que la administración del alcohol bloquea la actividad de los receptores α_1 , sobrerregulando su expresión en la aorta (Mahmoud *et al.*, 2003).

En el grupo diabetes-etanol la respuesta contráctil también disminuyó respecto al grupo etanol (figura 6A), lo que proponemos podría atribuirse a alteraciones en la función y hemodinámica vascular. La respuesta observada en el grupo diabético-etanol coincide con las observaciones de Lizarte y colaboradores. Estos autores abordaron el efecto del consumo de alcohol en ratas diabéticas en la contractilidad y relajación dependiente de endotelio en células del músculo liso carvernosos; en su investigación reportaron una disminución en la respuesta del endotelio, sugiriendo una función alterada del músculo liso al exhibir una menor sensibilidad a los efectos del NO y una disminución en la vía de señalización dependiente del endotelio NO/GMPc (Lizarte *et al.*, 2010). La menor sensibilidad de las células del músculo liso a los efectos del NO, aunado al estado hipocontráctil presentado en la diabetes y efectos perjudiciales por la administración de alcohol, sugieren una posible exacerbación de la fisiopatología diabética. Además, el incremento en la presión arterial también contribuye al desarrollo de las complicaciones vasculares de la diabetes.

La modulación ejercida por el SNS en el tono vascular y la resistencia arterial periférica son ejes rectores en el sostenimiento de la presión arterial y la perfusión a órganos en condiciones fisiológicas. La posible inducción de cambios funcionales y de expresión de los receptores α_1 en la vasculatura puede jugar un papel central en la patogénesis de las alteraciones vasculares consecuencia de la diabetes y el consumo de

alcohol. Con el objetivo de definir el subtipo de receptor α_1 que está participando en la respuesta evaluada se empleó el BMY 7378, un antagonista altamente selectivo del receptor α_{1D} ; este subtipo ha sido definido como el principal actor en la contractilidad vascular. En la (figura 7) las curvas fueron desplazadas en paralelo a las curvas control, característico de un antagonismo competitivo típico. En este sentido, los valores de afinidad aparente (pA_2) obtenidos fueron altos (8.62 SE y 8.28 CE), estos valores coinciden con los valores de afinidad aparente reportados experimentalmente del receptor α_{1D} por el BMY 7378 (8.6 - 9.1), según la Unión Internacional de Farmacología Clínica y Básica (Baker *et al.*, 2023). Las pendientes no fueron diferentes de 1, por lo tanto el análisis de Schild sugiere que el $RA\alpha_{1D}$ se encuentra funcionalmente y de manera predominante en la aorta de rata. Es importante señalar que la homogeneidad en los valores de pA_2 obtenidos en los ensayos con anillos de aorta con endotelio y sin endotelio (E+ y E-) se deben a la escasa densidad de receptores α_1 en la monocapa de células endoteliales y a la posible contribución a la respuesta contráctil α_1 adrenérgica.

La figura 8, muestra que la respuesta contráctil de la aorta torácica en el grupo etanol está mediada por el receptor α_{1D} , adicionalmente el desplazamiento fue mayor respecto al grupo control y que se obtuvieron de valores de pA_2 elevados (9.06 SE y 8.92 CE), este patrón de desplazamiento sugiere una mayor densidad funcional del receptor en la membrana plasmática. Mientras en el grupo diabético-etanol (figura 9) y diabético (figura 10), los valores de pA_2 fueron mayores respecto a los otros grupos de tratamiento con valores (9.62 SE y 8.883 CE) y (9.34 SE y 8.72 CE) respectivamente, sugiriendo que en la diabetes la respuesta contráctil en la aorta torácica de ratas diabéticas está mediada por el

receptor α_{1D} , además de sugerir una mayor densidad funcional en la membrana plasmática. Estos resultados coinciden con lo reportado por Park y colaboradores quienes evaluaron la función contráctil en la aorta abdominal de ratas con diabetes experimental, y observaron una contractilidad adrenérgica α_1 aumentada y al emplear el BMY 7378 se obtuvieron valores de afinidad aparente del antagonista por el receptor elevados (pA_2 de 8.49), concluyendo que la respuesta contráctil de la aorta abdominal esta mediada por el receptor α_{1D} . Además, evaluaron la distribución de los distintos subtipos de $RA\alpha_1$ por inmunofluorescencia y Western blot encontrando que los tres subtipos aumentaron su expresión (Park *et al.*, 2011).

Estos hallazgos sugieren posibles diferencias funcionales entre la aorta abdominal y la aorta torácica. Una posibilidad reside en la afectación diferencial de la arteria en la región torácica y abdominal; la aorta torácica se ve mayormente afectada por los procesos de rigidez y remodelación arterial con la consecuente modificación del calibre vascular en el establecimiento de la hipertensión arterial, sugiriendo la existencia de daños hemodinámicos y la disfunción de órganos susceptibles especialmente el riñón (Hashimoto 2014). Además, Armenia y colaboradores reportaron que los subtipos α_{1A} y α_{1D} corresponden a los de mayor importancia en la vasoconstricción renal de ratas espontáneamente hipertensas y con inducción de diabetes experimental (Armenia *et al.*, 2004).

De los tres subtipos de receptores, los α_{1D} han sido los menos estudiados debido a las dificultades en obtener niveles significativos de expresión y a que la mayor densidad de receptores se encuentra en vesículas intracelulares (Janezic *et al.*, 2020). Villalobos-Molina y colaboradores reportaron que a nivel funcional el $RA\alpha_{1D}$ es el principal subtipo implicado

en el desarrollo de la hipertensión, con una expresión predominante en la aorta de rata (Villalobos *et al.*, 1999). En la presente investigación se evaluó la expresión del receptor α_{1D} en la aorta de ratas diabéticas administradas con alcohol (figura 11), el grupo diabético mostro un aumento significativo en la expresión relativa del receptor en la aorta respecto al grupo control, etanol y diabético-etanol. La administración de alcohol 3 g/kg de peso por 21 días en el grupo diabético-etanol parece atenuar la sobreexpresión del receptor α_{1D} observada en el grupo diabético. Por otro lado, en el grupo etanol, la administración de alcohol disminuyó ligeramente respecto al grupo control sin llegar a ser significativo.

El aumento en la expresión del receptor α_{1D} observado en el grupo diabético (figura 11) contrasta con lo reportado por Rodríguez y colaboradores (2013), quienes evaluaron la expresión de los receptores α_1 por Western blot en la aorta de ratas genéticamente hipertensas con diabetes experimental, señalando que ninguna de las condiciones modificó la expresión relativa del receptor α_{1D} (Rodríguez *et al.*, 2013). Mientras que en un reporte posterior señalaron que la expresión relativa del receptor α_{1D} estimada por inmunofluorescencia se incrementa en la diabetes respecto al control, y que en ratas genéticamente hipertensas la expresión relativa del receptor se incrementó respecto al grupo diabético, atribuyendo estas diferencias a la evaluación específica de la expresión del receptor α_{1D} en la túnica media y la túnica íntima de la aorta (Rodríguez *et al.*, 2017). Indicamos son necesarios estudios de ARNm, marcadores de autofagia y muerte celular que aporten luz en la vía de señalización o blanco puntual afectado por el alcohol que modifica la expresión del receptor α_{1D} en la interacción con diabetes, además de la relevancia patológica de este evento en las complicaciones de la diabetes.

En el presente estudio, en contraste con el grupo diabético en el que se observó un aumento en la expresión del receptor α_{1D} de casi 3 veces, en el grupo diabético etanol se presentó una disminución en su sin llegar a ser estadísticamente significativa. Las modificaciones en la expresión de los receptores α_1 pueden afectar la función renal y hemodinámica vascular como reportaron Zhao y colaboradores (2014), quienes evaluaron los niveles de ARNm y la expresión proteica del receptor α_{1D} en los riñones de ratas Zucker lean y Zucker obesas, en estas últimas la expresión del ARNm del receptor α_{1D} aumentó significativamente en lo glomérulos y túbulo renales; estos autores asociaron el incremento del receptor α_{1D} con las lesiones glomerulares y túbulo intersticiales apreciadas en la nefropatía diabética (Zhao *et al.*, 2014). Por otro lado, Gonulalan y colaboradores evaluaron los niveles de ARNm de los 3 subtipos en la vejiga de ratas con diabetes experimental con 8 semanas de progresión, encontrando niveles de ARNm disminuidos de los subtipos $RA\alpha_{1A}$ y $RA\alpha_{1D}$ atribuyendo esta modificación a un mecanismo para disminuir en la respuesta de los receptores a los estímulos del SNS (Gonulalan *et al.*, 2012).

La importancia fisiológica y patológica de una modificación en la expresión funcional del receptor α_{1D} ha sido evidenciada por experimentos con *knockout* del receptor α_{1D} que demuestran su importancia en la regulación de la presión arterial, remodelación vascular, fibrosis e hipertrofia cardíaca, lesiones renales en animales hipertensos. En un modelo de síndrome metabólico Li y colaboradores (2023) plantearon que a través de la modulación de la actividad del receptor α_{1D} se genera una interrupción entre el sistema de retroalimentación que mantienen la activación del SNS y el estado de insulinoresistencia en la diabetes a pesar de persistir los niveles elevados de adrenalina y noradrenalina (Li *et al.*, 2023).

Dadas las observaciones en el presente estudio, proponemos que el efecto del alcohol sobre la contractilidad α_1 adrenérgica en una dosis que asegura el estado de embriaguez <50 mM en sangre es suficiente para observar un cambio funcional y a nivel de la expresión de proteína del receptor α_{1D} , este hecho fue mayormente apreciado en el grupo diabético-etanol donde la expresión del receptor disminuyó significativamente respecto del grupo diabético, sugiriendo que el consumo de alcohol en la diabetes exacerba la fisiopatología de la diabetes.

8. CONCLUSIÓN

La administración de alcohol en una dosis que asegura el estado de embriaguez presenta una respuesta vascular adrenérgica α_1 y expresión del receptor adrenérgico α_{1D} disminuida en ratas diabéticas, lo cual podría estar relacionado con la interacción del receptor adrenérgico α_{1D} en la diabetes y el consumo de alcohol, lo que sugiere su participación en la modulación de la función vascular contráctil y contribución al desarrollo de las complicaciones vasculares de la diabetes.

9. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Desarrollo experimental	Sept 2021/ febr 2022	Febr 2022/ Sept 2022	Sept 2021/ febr 2023	Febr 2023/ Sept 2023
Monitoreo del peso de los animales				
Asignación de grupos experimentales				
Inducción de DM experimental				
Medición de glucosa, y presión sanguínea				
Administración de alcohol alcohol				
Órgano aislado				
Western Blot				
Revisión de literatura científica y escritura de tesis				
Titulación				

10. REFERENCIAS

- Al Ghorani, H., Götzinger, F., Böhm, M., & Mahfoud, F. (2022). Arterial hypertension – Clinical trials update 2021. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases*, 32(1), 21. <https://doi.org/10.1016/J.NUMECD.2021.09.007>
- Alfonzo, M. A., Carmona R. G., Hernández E. D. A., Romero M. T., & García J. A. (2018). Different phosphorylation patterns regulate α 1D-adrenoceptor signaling and desensitization. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1865(6), 842–854. <https://doi.org/10.1016/J.BBAMCR.2018.03.006>
- American Diabetes Association. (2023). *Standards of Care in Diabetes* (p. 306). <https://doi.org/https://doi.org/10.2337/dc23-S003>
- Armenia, A., Munavvar, A. S., Abdullah, N. A., Helmi, A., & Johns, E. J. (2004). The contribution of adrenoceptor subtype (s) in the renal vasculature of diabetic spontaneously hypertensive rats. *British Journal of Pharmacology*, 142(4), 719–726. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705842>
- Arunlakshana, O., & Schild, H. O. (1958). Some quantitative uses of drug antagonists. *British Journal of Pharmacology*, 120(4 SUPPL.), 151–161. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1997.tb06793.x>
- Astrid P., Müller W. D., Müller, U. A., Landgraf, R., Nauck, M., Freckmann, G., Heinemann, L., & Schleicher, E. (2019). Definition , Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus * Authors Definition of Diabetes Mellitus Diagnostic Criteria of Diabetes Mellitus. *German Diabetes Association*, 127(Suppl 1), 51–57.
- Baker, J. G., Balaji, P., Bond, R. A., Bylund, D. B., Eikenburg, D. C., Graham, R. M., Hieble, J. P., Hills, R., Michel, M. C., Minneman, K. P., Parra, S., Perez, D., & Summers, R. (2023). Adrenoceptors in GtoPdb v.2023.1. *IUPHAR/BPS Guide to Pharmacology CITE*, 2023(1). <https://doi.org/10.2218/GTOPDB/F4/2023.1>
- Beghi, S., Furmanik, M., Jaminon, A., Veltrop, R., Rapp, N., Wichapong, K., Bidar, E., Buschini, A., & Schurgers, L. J. (2022). Calcium Signalling in Heart and Vessels: Role of Calmodulin and Downstream Calmodulin-Dependent Protein Kinases. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(24). <https://doi.org/10.3390/ijms232416139>
- Blomster, J. I., Zoungas, S., Chalmers, J., Li, Q., Chow, C. K., Woodward, M., Mancia, G., Poulter, N., Williams, B., Harrap, S., Neal, B., Patel, A., & Hillis, G. S. (2014). The relationship between alcohol consumption and vascular complications and mortality in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 37(5), 1353–1359. <https://doi.org/10.2337/dc13-2727>
- Broome, D. T., Pantalone, K. M., Kashyap, S. R., & Philipson, L. H. (2021). Approach to the Patient Approach to the Patient with MODY-Monogenic Diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 106(1), 237–250. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa710>

- Campos N. I., Hernández B. L., Oviedo S. C., Ramírez V. D., Hernández, B., & Barquera, S. (2021). Epidemiology of hypertension in Mexican adults: diagnosis, control and trends. *Ensanut 2020. Salud Publica de Mexico*, 63(6), 692–704. <https://doi.org/10.21149/12851>
- Cellsignal.Com. (2014). Phospholipase Signaling. *Cell Signaling Technology*, 2014.
- Clayton, Z. S., Hutton, D. A., Brunt, V. E., VanDongen, N. S., Ziemba, B. P., Casso, A. G., Greenberg, N. T., Mercer, A. N., Rossman, M. J., Campisi, J., Melov, S., & Seals, D. R. (2021). Apigenin restores endothelial function by ameliorating oxidative stress, reverses aortic stiffening, and mitigates vascular inflammation with aging. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 321(1), H185–H196. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00118.2021>
- Clyne, A. M. (2021). Endothelial response to glucose: dysfunction, metabolism, and transport. *Biochemical Society Transactions*, 49(1), 313. <https://doi.org/10.1042/BST20200611>
- Coffman, T. M. (2011). Under pressure: The search for the essential mechanisms of hypertension. *Nature Medicine*, 17(11), 1402–1409. <https://doi.org/10.1038/nm.2541>
- Cole, J. B., & Florez, J. C. (2020). Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications. *Nature Reviews Nephrology*, 16(7), 377–390. <https://doi.org/10.1038/s41581-020-0278-5>
- Day, E., & Rudd, J. H. F. (2019). Alcohol use disorders and the heart. *Addiction*, 114(9), 1670–1678. <https://doi.org/10.1111/add.14703>
- De-los-Santos, G., Martínez, J. C., Romero, M. T., Reyes, G., & García, J. A. (2020). Effects of agonists and phorbol esters on $\alpha 1A$ -adrenergic receptor-Rab protein interactions. *European Journal of Pharmacology*, 885. <https://doi.org/10.1016/J.EJP.2020.173423>
- Dorit R. and Robert O. (2012). Signaling Pathways Mediating Alcohol Effects. *Curr Top Behav Neurosci*, November 2011, 289–320. <https://doi.org/10.1007/7854>
- Drummond, P. D., Dawson, L. F., Wood, F. M., & Fear, M. W. (2018). Up-regulation of $\alpha 1$ -adrenoceptors in burn and keloid scars. *Burns*, 44(3), 582–588. <https://doi.org/10.1016/J.BURNS.2017.09.010>
- 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>
- Edith-Rodriguez, J., Resendiz-Albor, A. A., Arciniega-Martinez, I. M., Campos-Rodriguez, R., Hong, E., Huang, F., & Villafañá, S. (2013). Effect of early diabetes on the expression of alpha-1 adrenergic receptors in aorta and carotid arteries of wistar kyoto and spontaneously hypertensive rats. *Clinical and Experimental Hypertension*, 35(6), 389–395. <https://doi.org/10.3109/10641963.2012.739233>

- Eizirik, D. L., Pasquali, L., & Cnop, M. (2020). Pancreatic β -cells in type 1 and type 2 diabetes mellitus: different pathways to failure. *Nature Reviews Endocrinology*, 16(7), 349–362. <https://doi.org/10.1038/S41574-020-0355-7>
- El-Mas, M., Rekik, M., Rahman, A. A., & Mustafa, S. J. (2003). Chronic ethanol feeding potentiates α 1-adrenoceptor responsiveness in SHR aortas. *Clinical and Experimental Hypertension*, 25(6), 381–393. <https://doi.org/10.1081/CEH-120023546>
- Elgendy, R., Deschênes, S. S., Burns, R. J., Levy, M., & Schmitz, N. (2019). Alcohol consumption, depressive symptoms, and the incidence of diabetes-related complications. *Journal of Diabetes*, 11(1), 14–22. <https://doi.org/10.1111/1753-0407.12822>
- Elmadhun, N. Y., Lassaletta, A. D., Burgess, T., Sabe, A. A., & Sellke, F. W. (2013). Alcohol consumption improves insulin signaling in the myocardium. *Surgery (United States)*, 154(2), 320–327. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2013.04.030>
- Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2020 sobre COVID-19 - Federación Mexicana de Diabetes. (n.d.). Retrieved February 28, 2022, from <https://fmdiabetes.org/encuesta-nacional-salud-nutricion-2020-covid-19/>
- Fathallah, N., Slim, R., Larif, S., Hmouda, H., & Ben Salem, C. (2015). Drug-Induced Hyperglycaemia and Diabetes. *Drug Safety*, 38(12), 1153–1168. <https://doi.org/10.1007/S40264-015-0339-Z>
- Fuchs, F. D., & Fuchs, S. C. (2021). The Effect of Alcohol on Blood Pressure and Hypertension. *Current Hypertension Reports*, 23(10). <https://doi.org/10.1007/S11906-021-01160-7>
- Gholizadeh, N., Mohebbi, A. H., Mirzaii-Dizgah, I., & Sheykhbahaei, N. (2021). α 1 adrenergic receptors in serum and saliva of patients with oral squamous cell carcinoma. *Clinical and Translational Oncology*, 23(8), 1705–1710. <https://doi.org/10.1007/S12094-021-02571-3>
- Giri, B., Dey, S., Das, T., Sarkar, M., Banerjee, J., & Dash, S. K. (2018). Chronic hyperglycemia mediated physiological alteration and metabolic distortion leads to organ dysfunction, infection, cancer progression and other pathophysiological consequences: An update on glucose toxicity. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 107, 306–328. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.07.157>
- Gonulalan, U., Kosan, M., Hafez, G., Aroglu, E., Akdemir, O., Ozturk, B., Gur, S., & Cetinkaya, M. (2012). The effect of diabetes mellitus on α 1-adrenergic receptor subtypes in the bladder of rats. *Urology*, 80(4), 951.e9–951.e16. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2012.06.019>
- Guyenet. (2019). HHS Public Access. *Physiology & Behavior*, 176(3), 139–148. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.14521>. Neuronal
- Ha, J. M., Yun, S. J., Kim, Y. W., Jin, S. Y., Lee, H. S., Song, S. H., Shin, H. K., & Bae, S. S. (2015). Platelet-derived growth factor regulates vascular smooth muscle phenotype

- via mammalian target of rapamycin complex 1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 464(1), 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.05.097>
- Harris, R. A., Trudell, J. R., & Mihic, S. J. (2008). Ethanol's molecular targets. *Science Signaling*, 1(28). <https://doi.org/10.1126/scisignal.128re7>
- Harry T., Theophil J. G. (1979). Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications. *Biochemistry*, 76(9), 4350–4354. <https://doi.org/10.1002/bies.950190612>
- Hashimoto, J. (2014). *Central Hemodynamics and Target Organ Damage in Hypertension*. 233, 1–8. <https://doi.org/10.1620/tjem.233.1>.Correspondence
- Hill, M. A., Yang, Y., Zhang, L., Sun, Z., Jia, G., Parrish, A. R., & Sowers, J. R. (2021). Insulin resistance, cardiovascular stiffening and cardiovascular disease. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 119, 154766. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2021.154766>
- Hu, Z. W., Shi, X. Y., Okazaki, M., & Hoffman, B. B. (1995). Angiotensin II induces transcription and expression of α 1-adrenergic receptors in vascular smooth muscle cells. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 268(3 37-3). <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1995.268.3.h1006>
- Husain, K., Ansari, R. A., & Ferder, L. (2014). Alcohol-induced hypertension: Mechanism and prevention. *World Journal of Cardiology*, 6(5), 245. <https://doi.org/10.4330/wjc.v6.i5.245>
- Hwang, H. J., Yang, Y. R., Kim, H. Y., Choi, Y., Park, K. S., Lee, H., Ma, J. S., Yamamoto, M., Kim, J., Chae, Y. C., Choi, J. H., Cocco, L., Berggren, P. O., Jang, H. J., & Suh, P. G. (2019). Phospholipase C- β 1 potentiates glucose-stimulated insulin secretion. *FASEB Journal*, 33(10), 10668–10679. <https://doi.org/10.1096/fj.201802732RR>
- INEGI. (2021). Estadísticas a propósito del día mundial de la Diabetes (14 de noviembre). Datos nacionales. *Comunicado de Prensa*. No. 645/21, 645/21, 1–5. <https://www.paho.org/es/campanas/dia-mundial-diabetes-2020>
- International Federation of Diabetes*. (2022). Atlas 10 Rh Edition. <https://diabetesatlas.org/>
- Janezic, Eric M., My-Linh Lauer, S., George Williams, R., chungyoun, M., Lee, K.-S., navaluna, E., Lau, H.-T., ong, S.-E., & Hague, C. (2020). *N-glycosylation of α 1D-adrenergic receptor n-terminal domain is required for correct trafficking, function, and biogenesis*. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64102-4>
- Kaur, R., Kaur, M., & Singh, J. (2018). Endothelial dysfunction and platelet hyperactivity in type 2 diabetes mellitus: molecular insights and therapeutic strategies. *Cardiovascular Diabetology*, 17(1), 121. <https://doi.org/10.1186/S12933-018-0763-3>
- Khalili, A., Nekooeian, A. A., Khosravi, M. B., & Fakher, S. (2012). Simultaneous renal hypertension and type 2 diabetes exacerbate vascular endothelial dysfunction in rats.

International Journal of Experimental Pathology, 93(3), 210.
<https://doi.org/10.1111/J.1365-2613.2012.00811.X>

- Kitazawa, T., Eto, M., Woodsome, T. P., & Khalequzzaman, M. (2003). Phosphorylation of the myosin phosphatase targeting subunit and CPI-17 during Ca²⁺ sensitization in rabbit smooth muscle. *Journal of Physiology*, 546(3), 879–889.
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2002.029306>
- Kruger, N. J. (1994). The Bradford method for protein quantitation. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 32, 9–15. <https://doi.org/10.1385/0-89603-268-X:9>
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature* 1970 227:5259, 227(5259), 680–685.
<https://doi.org/10.1038/227680a0>
- Lascar, N., Brown, J., Pattison, H., Barnett, A. H., Bailey, C. J., & Bellary, S. (2018). Type 2 diabetes in adolescents and young adults. *The Lancet Diabetes and Endocrinology*, 6(1), 69–80. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(17\)30186-9](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(17)30186-9)
- Le Daré, B., Lagente, V., & Gicquel, T. (2019). Ethanol and its metabolites: update on toxicity, benefits, and focus on immunomodulatory effects. *Drug Metabolism Reviews*, 51(4), 545–561. <https://doi.org/10.1080/03602532.2019.1679169>
- Lee, J.-H., Bahk, J.-H., Park, S.-H., & Huh, J. (2011). The diabetes-induced functional and distributional changes of the alpha 1-adrenoceptor of the abdominal aorta and distal mesenteric artery from streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Anesthesiol*, 4, 272–281. <https://doi.org/10.4097/kjae.2011.60.4.272>
- Leto, D., & Saltiel, A. R. (2012). Regulation of glucose transport by insulin: Traffic control of GLUT4. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 13(6), 383–396.
<https://doi.org/10.1038/nrm3351>
- Li, X., Ma, W., Zhou, Y., Li, C., Shi, D., Kuang, W., Wu, J., Liao, Y., Qiu, Z., & Zhou, Z. (2023). Vaccine Targeting Alpha 1D-Adrenergic Receptor Improved Metabolic Syndrome in Mice. *Cardiovascular Drugs and Therapy*.
<https://doi.org/10.1007/s10557-022-07418-9>
- Liu, Y., Wei, J., Ma, K. T., Li, C. L., Mai, Y. P., Qiu, X. X., Wei, H., Hou, N., & Luo, J. D. (2020). Carvacrol protects against diabetes-induced hypercontractility in the aorta through activation of the PI3K/Akt pathway. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 125(June 2019), 109825. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.109825>
- Lizarte, F. S., Morgueti, M., Tirapelli, C. R., Claudino, M. A., Evora, P. R. B., Novais, P. C., Tirapelli, D. P. C., Celotto, A. C., Capellini, V. K., Celini, F. P. M., Tucci, S., Cologna, A. J., Antunes, E., Martins, A. C. P., & Tirapelli, L. F. (2010). Chronic alcoholism associated with diabetes impairs erectile function in rats. *BJU International*, 105(11), 1592–1597. <https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2009.09084.x>
- Luo, G., Xiao, L., Wang, D., Wang, N., Luo, C., Yang, X., & Hao, L. (2021). Resveratrol attenuates excessive ethanol exposure-induced β -cell senescence in rats: A critical role

- for the NAD⁺/SIRT1-p38MAPK/p16 pathway. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 89. <https://doi.org/10.1016/J.JNUTBIO.2020.108568>
- Ma, L., Zhu, B., Chen, X., Liu, J., Guan, Y., & Ren, J. (2008). Abnormalities of sarcoplasmic reticulum CA²⁺ mobilization in aortic smooth muscle cells from streptozotocin-induced diabetic rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 35(5–6), 568–573. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2007.04832.x>
- Materson, B. J. (2014). Diagnostic evaluation Classification of hypertension. *Journal of the American Society of Hypertension*, 8(9), 680–681. <https://doi.org/10.1016/J.JASH.2014.07.031>
- Minzer, S., Losno, R. A., & Casas, R. (2020). The effect of alcohol on cardiovascular risk factors: Is there new information? *Nutrients*, 12(4), 1–22. <https://doi.org/10.3390/nu12040912>
- Mota, R. I., Morgan, S. E., & Bahnson, E. M. (2020). Diabetic vasculopathy: macro and microvascular injury. *Current Pathobiology Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1007/S40139-020-00205-X>
- Munukutla, S., Pan, G., Deshpande, M., Thandavarayan, R. A., Krishnamurthy, P., & Palaniyandi, S. S. (2016). Alcohol Toxicity in Diabetes and Its Complications: A Double Trouble? *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 40(4), 686–697. <https://doi.org/10.1111/acer.13008>
- Nova, E., San Mauro, I., Díaz, L. E., & Marcos, A. (2019). Wine and beer within a moderate alcohol intake is associated with higher levels of HDL-c and adiponectin. *Nutrition Research*, 63, 42–50. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2018.12.007>
- Ohishi, M. (2018). Hypertension with diabetes mellitus: Physiology and pathology review-article. *Hypertension Research*, 41(6), 389–393. <https://doi.org/10.1038/s41440-018-0034-4>
- Organización Mundial de la Salud. (2021). *Hypertension*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>
- Papay, R. S., & Perez, D. M. (2021). α 1-Adrenergic receptors increase glucose oxidation under normal and ischemic conditions in adult mouse cardiomyocytes. *Journal of Receptor and Signal Transduction Research*, 41(2), 138–144. <https://doi.org/10.1080/10799893.2020.1799291>
- Pareek, M., & Olsen, M. H. (2017). Alcohol and blood pressure. *The Lancet Public Health*, 2(2), e63–e64. [https://doi.org/10.1016/S2468-2667\(17\)30009-9](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(17)30009-9)
- Park, S. H., Bahk, J. H., Oh, A. Y., Gil, N. S., Huh, J., & Lee, J. H. (2011). Gender difference and change of α 1-adrenoceptors in the distal mesenteric arteries of streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean Journal of Anesthesiology*, 61(5), 419. <https://doi.org/10.4097/KJAE.2011.61.5.419>
- Petrie, J. R., Guzik, T. J., & Touyz, R. M. (2018). Diabetes, Hypertension, and

- Cardiovascular Disease: Clinical Insights and Vascular Mechanisms. *Canadian Journal of Cardiology*, 34(5), 575–584. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2017.12.005>
- Pinho, J. F., Medeiros, M. A. A., Capettini, L. S. A., Rezende, B. A., Campos, P. P., Andrade, S. P., Cortes, S. F., Cruz, J. S., & Lemos, V. S. (2010). Phosphatidylinositol 3-kinase- δ up-regulates L-type Ca^{2+} currents and increases vascular contractility in a mouse model of type 1 diabetes. *British Journal of Pharmacology*, 161(7), 1458. <https://doi.org/10.1111/J.1476-5381.2010.00955.X>
- Polsky, S., & Akturk, H. K. (2017). Alcohol Consumption, Diabetes Risk, and Cardiovascular Disease Within Diabetes. *Current Diabetes Reports*, 17(12). <https://doi.org/10.1007/s11892-017-0950-8>
- Qu, L., Zhou, Q., Xu, Y., Guo, Y., Chen, X., Yao, D., Han, G. W., Liu, Z. J., Stevens, R. C., Zhong, G., Wu, D., & Zhao, S. (2019). Structural Basis of the Diversity of Adrenergic Receptors. *Cell Reports*, 29(10), 2929-2935.e4. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2019.10.088>
- Ringvold, H. C., & Khalil, R. A. (2017). Protein Kinase C as Regulator of Vascular Smooth Muscle Function and Potential Target in Vascular Disorders. In *Advances in Pharmacology* (1st ed., Vol. 78). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2016.06.002>
- Rodríguez, J. E., Romero, R., Reséndiz, A. A., Rosales, E., Hong, E., Huang, F., & Villafaña, S. (2017). Expression and localization of the AT1 and AT2 angiotensin II receptors and $\alpha 1\text{A}$ and $\alpha 1\text{D}$ adrenergic receptors in aorta of hypertensive and diabetic rats. *Clinical and Experimental Hypertension*, 39(1), 85–92. <https://doi.org/10.1080/10641963.2016.1200610>
- Sala, A., Choi, J. W., Han, E., & Kim, T. H. (2022). *Risk of Hypertension and Type 2 Diabetes in Relation to Changes in Alcohol Consumption: A Nationwide Cohort Study*. <https://doi.org/10.3390/ijerph19094941>
- Schlereth, T., Morellini, N., Lismont, N. C. A. M., Lemper, C., Birklein, F., & Drummond, P. D. (2021). Alpha 1 adrenoceptor expression in skin, nerves and blood vessels of patients with painful diabetic neuropathy. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical*, 234. <https://doi.org/10.1016/J.AUTNEU.2021.102814>
- Simon, L., & Molina, P. E. (2022). Cellular Bioenergetics: Experimental Evidence for Alcohol-induced Adaptations. *Function*, 3(5), 1–18. <https://doi.org/10.1093/function/zqac039>
- Souza Bomfim, G. H., Musial, D. C., Rocha, K., Jurkiewicz, A., & Jurkiewicz, N. H. (2022). Red wine but not alcohol consumption improves cardiovascular function and oxidative stress of the hypertensive-SHR and diabetic-STZ rats. *Clinical and Experimental Hypertension*, 44(6), 573–584. <https://doi.org/10.1080/10641963.2022.2085737>
- Sun, T., & Han, X. (2020). Death versus dedifferentiation: The molecular bases of beta cell

- mass reduction in type 2 diabetes. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 103(August), 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2019.12.002>
- Suzuki, H., Usui, I., Kato, I., Oya, T., Kanatani, Y., Yamazaki, Y., Fujisaka, S., Senda, S., Ishii, Y., Urakaze, M., Mahmood, A., Takasawa, S., Okamoto, H., Kobayashi, M., Tobe, K., & Sasahara, M. (2011). Deletion of platelet-derived growth factor receptor- β improves diabetic nephropathy in Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II α (Thr286Asp) transgenic mice. *Diabetologia*, 54(11), 2953–2962. <https://doi.org/10.1007/S00125-011-2270-X/FIGURES/5>
- Sweeting, A., Wong, J., Murphy, H. R., Ross, G. P., Hons, M., & Hl, G. (2022). A Clinical Update on Gestational Diabetes Mellitus. *Endocrine Reviews*, 43, 763–793. <https://doi.org/10.1210/endrev/bnac003>
- Tatsumi, Y., Morimoto, A., Asayama, K., Sonoda, N., Miyamatsu, N., Ohno, Y., Miyamoto, Y., Izawa, S., & Ohkubo, T. (2018). Association between alcohol consumption and incidence of impaired insulin secretion and insulin resistance in Japanese: The Saku study. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 135, 11–17. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2017.10.021>
- 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>
- Toda, N., & Ayajiki, K. (2010). Vascular actions of nitric oxide as affected by exposure to alcohol. In *Alcohol and Alcoholism* (Vol. 45, Issue 4, pp. 347–355). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/alcalc/agq028>
- Touyz, R. M., Alves-Lopes, R., Rios, F. J., Camargo, L. L., Anagnostopoulou, A., Arner, A., & Montezano, A. C. (2018). Vascular smooth muscle contraction in hypertension. *Cardiovascular Research*, 114, 529–539. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvy023>
- Unger, T., Borghi, C., Charchar, F., Khan, N. A., Poulter, N. R., Prabhakaran, D., Ramirez, A., Schlaich, M., Stergiou, G. S., Tomaszewski, M., Wainford, R. D., Williams, B., & Schutte, A. E. (2020). 2020 International Society of Hypertension Global Hypertension Practice Guidelines. *Hypertension*, 75(6), 1334–1357. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15026>
- Valerio, G., Mozzillo, E., Zito, E., De Nitto, E., Maltoni, G., Marigliano, M., Zucchini, S., Maffei, C., & Franzese, A. (2019). Alcohol consumption or cigarette smoking and cardiovascular disease risk in youth with type 1 diabetes. *Acta Diabetologica*, 56(12),

1315–1321. <https://doi.org/10.1007/s00592-019-01415-5>

- Villalobos, R., López, J. J., & Ibarra, M. (1999). Functional evidence of $\alpha(1D)$ -adrenoceptors in the vasculature of young and adult spontaneously hypertensive rats. *British Journal of Pharmacology*, 126(7), 1534–1536. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0702468>
- Wakabayashi, I. (2008). Influence of gender on the association of alcohol drinking with blood pressure. *American Journal of Hypertension*, 21(12), 1310–1317. <https://doi.org/10.1038/ajh.2008.299>
- Wang, J., Tang, Y., Wang, S., Cui, L., Li, D., & Du, M. (2021). Norepinephrine exposure restrains endometrial decidualization during early pregnancy. *Journal of Endocrinology*, 248(3), 277–288. <https://doi.org/10.1530/JOE-20-0479>
- Wang, S., Luo, Y., Feng, A., Li, T., Yang, X., Nofech, R., Yu, M., Wang, C., Li, Z., Yi, F., Liu, C., & Lu, W. Y. (2014). Ethanol induced impairment of glucose metabolism involves alterations of GABAergic signaling in pancreatic β -cells. *Toxicology*, 326, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2014.10.005>
- Werner, C., Müller, N., & Alfons, U. (2019). Agonistic autoantibodies against B2-adrenergic receptors correlating with macrovascular disease in longstanding diabetes type 2. *Acta Diabetologica*, 0(0), 0. <https://doi.org/10.1007/s00592-019-01296-8>
- Wijaya, L. K., Stumbles, P. A., & Drummond, P. D. (2020). Tumor necrosis factor α induces α 1B-adrenergic receptor expression in keratinocytes. *Cytokine*, 125. <https://doi.org/10.1016/J.CYTO.2019.154851>
- Witte, D.R., Tesfaye, S.H., Chaturvedi, N., Eaton, S.E., Kempler, P., Fuller, J.H., & Group, E. P. (2005). Risk factors for cardiac autonomic neuropathy in type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia*, 48, 164–171. <https://doi.org/10.1007/s00125-004-1617-y>
- Wu, T., Wang, J., Zhang, Y., Shao, Y., Li, X., Guo, Y., Dong, W., Wang, L., Chen, F., & Han, X. (2021). Lentinan protects against pancreatic β -cell failure in chronic ethanol consumption-induced diabetic mice via enhancing β -cell antioxidant capacity. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 25(13), 6161–6173. <https://doi.org/10.1111/JCMM.16529>
- Wynne, K., Devereaux, B., & Dornhorst, A. (2019). Diabetes of the exocrine pancreas. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 34(2), 346–354. <https://doi.org/10.1111/JGH.14451>
- Xin, X., Yang, N., & Faber, J. E. (1999). Platelet-derived growth factor-BB inhibits rat α 1D-adrenergic receptor gene expression in vascular smooth muscle cells by inducing AP-2-like protein binding to α 1D proximal promoter region. *Molecular Pharmacology*, 56(6), 1152–1161. <https://doi.org/10.1124/mol.56.6.1152>
- Döndaş, N., Kaplan, M., Kaya, D., & Şingirik, E. (2009). The impact of extracellular and intracellular Ca^{2+} on ethanol-induced smooth muscle contraction. *Acta Pharmacologica Sinica*. <https://doi.org/10.1038/aps.2009.123>

- Yamazaki, D., Hitomi, H., & Nishiyama, A. (2018). *Hypertension with diabetes mellitus complications*. <https://doi.org/10.1038/s41440-017-0008-y>
- Yao, Y., Song, Q., Hu, C., Da, X., Yu, Y., He, Z., Xu, C., Chen, Q., & Wang, Q. K. (2022). Endothelial cell metabolic memory causes cardiovascular dysfunction in diabetes. *Cardiovascular Research*, 118(1), 196–211. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvab013>
- Yildiz, M., Esenboğa, K., & Oktay, A. A. (2020). Hypertension and diabetes mellitus: highlights of a complex relationship. *Current Opinion in Cardiology*, 35(4), 397–404. <https://doi.org/10.1097/HCO.0000000000000748>
- Yuan, C., Ni, L., Zhang, C., Hu, X., & Wu, X. (2021). Vascular calcification: New insights into endothelial cells. *Microvascular Research*, 134, 104105. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2020.104105>
- Zhang, H., Pu, Y., Chen, J., Tong, W., Cui, Y., Sun, F., Zheng, Z., Li, Q., Yang, T., Meng, C., Lu, Z., Li, L., Yan, Z., Liu, D., & Zhu, Z. (2014). Gastrointestinal Intervention Ameliorates High Blood Pressure Through Antagonizing Overdrive of the Sympathetic Nerve in Hypertensive Patients and Rats. *Journal of the American Heart Association: Cardiovascular and Cerebrovascular Disease*, 3(5). <https://doi.org/10.1161/JAHA.114.000929>
- Zhao, X., Zhang, Y., Leander, M., Li, L., Wang, G., & Emmett, N. (2014). Altered expression profile of renal $\alpha 1D$ -adrenergic receptor in diabetes and its modulation by PPAR agonists. *Journal of Diabetes Research*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/725634>
- Zhou, F., Rao, F., Deng, Y. Q., Yang, H., Kuang, S. J., Wu, F. L., Wu, S. L., Xue, Y. M., Wu, X. M., & Deng, C. Y. (2019). Atorvastatin ameliorates the contractile dysfunction of the aorta induced by organ culture. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 392(1), 19–28. <https://doi.org/10.1007/S00210-018-1559-4>