



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE PSICOLOGIA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION PRENATAL
DE NALTREXONA SOBRE EL DESARROLLO DE
LA CONDUCTA SOCIAL, ACTIVIDAD
LOCOMOTORA Y ANALGESIA EN EL RATON

T E S I S

QUE POR OPTAR AL GRADO DE :
MAESTRA EN PSICOBIOLOGIA

P R E S E N T A :

LIC. SILVIA MEJIA ARANGO

SINODALES:

DIRECTOR DE TESIS - DR. MIGUEL LUJAN E.
DR. CARLOS CONTRERAS
DR. VICTOR COLOTLA
DR. VICTOR URIARTE
MTRA. MATILDE VALENCIA.

MEXICO. D. F.

1987



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mis padres

A Miguel

Agradezco a las autoridades del Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina, U. N. A. M., por las facilidades brindadas para la realización de esta tesis.

De manera especial, agradezco al Dr. Miguel Luján por su apoyo y dirección.

Asimismo, quisiera agradecer al Dr. David Servín-Hernández, a la Psic. María del Pilar Santacruz y al Biol. Ricardo Mondragón por su colaboración en este trabajo.

INDICE

RESUMEN	2
INTRODUCCION	3
1. Antagonistas Opioides y Conducta Social	5
2. Antagonistas Opioides y Actividad Locomotora	7
3. Antagonistas Opioides y Analgesia	8
4. Administración Crónica de Opioides	8
5. Teratología Conductual	9
5.1. Los agonistas opioides como agentes teratógenos....	10
5.1.1 Estudios Clínicos	10
5.1.2 Respuesta Analgésica	11
5.1.3 Actividad Locomotora	12
5.1.4 Otros efectos de los agonistas	13
5.2. Los antagonistas opioides como agentes teratógenos.	14
5.2.1 Respuesta Analgésica	14
5.2.2 Actividad Locomotora	15
5.2.3 Procesos de Desarrollo	16
6. Desarrollo de las respuestas mediadas por opioides	17
6.1. Respuesta Analgésica	17
6.2. Actividad Locomotora	19
7. Desarrollo ontogenético de los receptores opioides	20
8. Desarrollo ontogenético de los endopioides	21
9. Ontogenia de los sistemas opioides y las respuestas	22
10. Efectos teratógenos sobre los receptores opioides	22
OBJETIVOS	24
HIPOTESIS	24
MATERIAL Y METODOS	24
RESULTADOS	32
DISCUSION	53
DISCUSION GENERAL	65
APENDICE	
I. Conductas	68
REFERENCIAS	71

RESUMEN

Existen evidencias de que la administración de antagonistas opioides puede afectar el desarrollo neurobiológico, alterando las funciones con las que se ha asociado al sistema opiopeptidérgico. En el presente estudio se describen los efectos de la administración prenatal de naltrexona sobre el desarrollo de la conducta social, actividad locomotora y respuesta analgésica en el ratón.

Se utilizaron 60 ratones hembras de la cepa CD-1. Al principio del experimento permanecieron 5 hembras y 1 macho por jaula, durante 5 días, después de lo cual, la presencia de tapón espermático en la vagina de las hembras se consideró como el día cero de la gestación. Los ratones hembras preñadas se distribuyeron al azar en dos grupos para recibir 10 mg/kg de naltrexona ó 0.10 ml por 10 gr de solución salina por vía subcutánea cada 12 h. Este tratamiento se mantuvo de principio a fin de la etapa de gestación (21 días).

Con el fin de evaluar el desarrollo conductual de los productos se realizó, inicialmente, un registro de la actividad locomotora y conducta social por camada, durante la última semana del periodo de lactancia (2-3 semanas). Durante los periodos del destete (5-6 semanas), adulto joven (8-9 semanas) y adulto maduro (11-12 semanas) se registró la actividad locomotora a través de una caja de actividad con fotoceldas; la respuesta nociceptiva mediante la técnica del plato caliente; y la conducta social, con base en las categorías propuestas por Jones y Brain (1985). Finalmente, durante la 13 semana del desarrollo, se determinaron los efectos del tratamiento prenatal sobre la sensibilidad a morfina y a naloxona, mediante la preparación de vas deferens.

Se encontró un aumento en la actividad locomotora durante los periodos del destete y adulto maduro. Con respecto a la respuesta nociceptiva se observó un aumento en las latencias del lamido de patas durante el periodo de adulto joven y una modificación en el patrón de desarrollo de la respuesta de salto. Por otro lado, los ratones machos tratados presentaron una disminución de diversas conductas pertenecientes a la mayoría de las categorías evaluadas. Estos cambios se presentaron durante los periodos de adulto joven y adulto maduro, a diferencia de los cambios en los ratones hembras, los cuales se presentaron durante el periodo del destete. A través de la preparación de vas deferens, se encontró un aumento de 2 a 3 veces en la sensibilidad a morfina y un aumento significativo en la recuperación por naloxona en los tejidos de los animales tratados.

Estos resultados indican que los cambios en la sensibilidad de los receptores opioides, inducidos por la administración prenatal de naltrexona, se asocian con una modificación de las conductas que están mediadas por los sistemas opiopeptidérgicos.

INTRODUCCION

Durante los últimos años, un gran número de investigadores se han dedicado a estudiar los mecanismos por los cuales producen sus efectos los opioides y a la caracterización de los receptores opiáceos. Asimismo, se han realizado varios estudios acerca del papel de los péptidos opioides, naturales y sintéticos, en diversos patrones conductuales, los cuales incluyen la conducta social y las enfermedades mentales entre las más elaboradas. Se han constituido en un instrumento de investigación muy valioso, facilitando así progresos científicos en áreas del conocimiento.

Los términos de opioides y opiáceos se han empleado de manera diferente. En 1937, Acheson designó como opioides a todos aquellos compuestos naturales y semisintéticos, que tenían propiedades farmacológicas semejantes a la morfina, y empleó el término de opiáceos para referirse a los alcaloides del opio y a sus derivados. Sin embargo, con el advenimiento de estructuras morfínicas totalmente sintéticas, los términos se usaron indistintamente. En la actualidad el término de opioide se aplica, en forma genérica, a todos los fármacos naturales y sintéticos con acciones semejantes a la morfina, e incluye a los antagonistas de los opiáceos, a los receptores específicos de estos sistemas y a los péptidos que se consideran ligando endógenos de dichos receptores (Jaffe y Martin, 1986).

El primer avance significativo en la historia moderna de los opioides ocurrió en 1975, cuando se reportó el aislamiento y la identificación de una serie de sustancias endógenas de naturaleza peptídica en el cerebro de mamíferos (Hughes et al., 1975; Pasternak et al., 1975) y en la hipófisis (Cox et al., 1975; Tesechemacher et al., 1975); sustancias cuya actividad biológica era semejante a la conocida para la morfina.

Hasta el momento se han identificado tres familias de péptidos opioides con precursores y distribución anatómica diferentes. Las encefalinas, metionina-encefalina y leucina-encefalina, se derivan de un precursor común: la proencefalina. Presentan una distribución amplia en el sistema nervioso central, principalmente en sistemas neuronales cortos (Hughes et al., 1979). Las endorfinas se originan de la proopiomelanocortina (POMC), un polipéptido que contiene la secuencia de amino ácidos de la beta-lipotropina, dentro de la cual está la beta-endorfina (Kachaturian et al., 1985). Los cuerpos celulares de los sistemas endorfinérgicos se localizan principalmente en la región arcuata del hipotálamo y en la hipófisis con proyecciones al locus coeruleus, formando un sistema básicamente periventricular (Bloom, 1983). La prodinorfina constituye el precursor de cinco péptidos que contienen leu-encefalina: la dinorfina A, la dinorfina B y neoendorfinas alfa y beta. El sistema dinorfinérgico está presente en el hipotálamo, hipófisis y médula espinal (Jaffe y Martin, 1986)

Las funciones de las diferentes opiopeptinas varían no sólo según su localización, sino también dependiendo del tipo de estímulo activante y de la presencia de neuroreguladores que la acompañen en su liberación (Mosqueda, 1982). El conocimiento acerca de las funciones con las que se han relacionado a los péptidos opiáceos, se deriva de los efectos observados después de su administración. En este sentido, se han planteado que posiblemente actúen como reguladores de la liberación de acetilcolina y/o de otros neurotransmisores (Marwaha y Frank, 1980); de las funciones viscerales (Bunney, 1979); de los mecanismos de control del dolor (Inturrisi, 1984); de las funciones extrapiramidales (Cuello, 1979).

La participación de los péptidos opiáceos en la regulación de los sistemas de recompensa y procesos de placer y adicción (Panksepp, 1981a), es de especial interés para el presente estudio. Este planteamiento se basa en el hecho de que cualquier

alteración en la homeostásis fisiológica puede considerarse como un evento estresante y sugiere, además, que la función global del los sistemas opiopeptidérgicos es la de contrarrestar la influencia del estrés, restaurando la homeostásis. También se ha planteado que el placer está relacionado con las condiciones que restauran la homeostásis (Cabanac, 1971), por lo que la modulación que ejercen los opioides sobre los aspectos afectivos, puede entenderse como el componente psíquico de un proceso cerebral que normaliza la actividad en los circuitos neurales alterados. Este principio explica, en parte, las propiedades adictivas de los opioides (Panksepp, 1986).

1. ANTAGONISTAS OPIOIDES Y CONDUCTA SOCIAL

Muy estrechamente ligado con lo anterior, y empleando la administración de antagonistas "puros" de los opiáceos como un procedimiento para el estudio de los endopioides (Luján et al., 1984; Luján y Rodríguez, 1987), se han realizado varias investigaciones que evidencian el papel de estas sustancias en la conducta social.

Los primeros experimentos realizados por Panksepp y sus colegas, los cuales dieron origen a esta línea de trabajo, reportaron que la naloxona producía en neonatos de diferentes especies, un aumento en las vocalizaciones inducidas por la separación de la madre; mientras que la morfina producía el efecto opuesto (Herman y Panksepp, 1978; Panksepp et al., 1978a; Panksepp et al., 1978b). También evaluaron el papel de los sistemas opioides en la elaboración del valor reforzante de la proximidad interanimal, encontrándose que, en general, la administración de naloxona aumenta la cohesión social y la morfina la reduce (Panksepp et al., 1979a).

El papel de los opioides en la conducta agresiva ha sido estudiado extensamente por diversos autores. Al emplear un

modelo de agresión inducida por la administración de choque eléctrico, se encuentra que la naloxona aumenta la conducta agresiva, lo cual se explica por un aumento en los umbrales nociceptivos causados por la administración de naloxona (Fanselow et al., 1980). Sin embargo, Puglisi-Allegra y Oliverio (1981) observan el mismo efecto con dosis de naloxona que no modifican la respuesta analgésica.

Por otro lado, y en forma consistente, se ha encontrado que la naloxona produce una disminución en la conducta agresiva, al emplear el paradigma de intruso-residente (Lynch et al., 1983). Algunos de los estudios que reportan este efecto también encuentran un aumento paralelo en las conductas defensivas (Brain et al., 1985).

Una de las formas principales de interacción social es el juego. La administración de naloxona reduce esta conducta en parejas de ratas cuando ambos animales reciben el fármaco (Panksepp, 1979b), como también cuando un animal recibe el antagonista y el otro solución salina (Jalowiec et al., 1980). Este efecto se hace evidente no sólo en ratas que han estado previamente agrupadas sino también en ratas previamente aisladas; condición ambiental que por sí sola aumenta las conductas de juego (Panksepp 1979b, 1986).

También se ha observado la participación de los péptidos opioides en los patrones de dominancia y sumisión que presentan las ratas. En este sentido, Panksepp y sus colegas (1985) encuentran que la administración de naloxona facilita los patrones de sumisión. Concretamente, en los casos donde se ha instaurado la dominancia, la naloxona aumenta la sumisión en los animales sumisos y disminuye la dominancia en los animales dominantes. Por otra parte, la administración de morfina produce el efecto opuesto.

Otros autores han encontrado que la administración de naloxona produce, en monos, un aumento en la conducta de aseo social de manera generalizada. Es decir, todos los monos presentan la conducta independientemente de su rango social, el cual determina quién recibe el aseo social y quienes lo realizan. Los autores plantean que el bloqueo de los receptores opioides aumenta la necesidad de contacto social, provocando que los monos busquen más apoyo y confort mediante el aseo social (Fabre-Nys et al., 1982).

2. ANTAGONISTAS OPIOIDES Y ACTIVIDAD LOCOMOTORA

Otra de las conductas donde se ha evidenciado la participación de los péptidos opioides es la actividad locomotora. En relación con los efectos de los antagonistas, se ha encontrado una disminución cuya magnitud varía según la dosis (Ukai y Kameyama, 1985).

También se ha encontrado que los efectos de los antagonistas varían con la presencia de un ambiente experimental novedoso. Katz y sus cols. (1978) observan una disminución de la actividad locomotora cuando se expone al ratón a un ambiente novedoso. Sin embargo, cuando se ha producido habituación al ambiente experimental, la naloxona no produce ningún efecto. Arnsten y Segal (1979) reportan una disminución con dosis bajas, lo que se correlaciona con un aumento en los contactos con el estímulo novedoso y una supresión general de la actividad con dosis altas, donde se disminuyen los contactos con el estímulo. Estos autores sugieren que la naloxona a dosis bajas aumenta la responsividad y/o la sensibilidad a los estímulos ambientales. Contrariamente, Katz y Gelbart (1978) observan que la naloxona produce una disminución en la conducta exploratoria, aún con dosis bajas.

3. ANTAGONISTAS OPIOIDES Y ANALGESIA

En relación a los mecanismos que modulan el dolor, Jacob y cols. (1974) reportan la primera evidencia, en animales experimentales, de que la administración de naloxona facilita las reacciones nociceptivas en el plato caliente, y plantean que el aumento se debe a una interferencia con las sustancias endógenas que son reguladores de la sensibilidad y reacción al dolor (citado por Ramabadran y Jacob, 1979). Posteriormente, han surgido una serie de trabajos al respecto donde se reportan efectos diferenciales. Estas diferencias podrían deberse a que los métodos de medición no sean los adecuados, como también a que los sistemas de opioides endógenos no se encuentren activos continuamente (Luján et al., 1984). Más aun, el efecto hiperalgésico de la naloxona tiene un ritmo circadiano, siendo mayor en las horas de oscuridad que durante la luz (Frederickson, 1977).

Sin embargo, se ha observado que la naloxona produce hiperalgesia en varias pruebas, como el plato caliente, sacudida de cola o estimulación eléctrica en la cola (Amir et al., 1980). El hecho de que la naloxona aumente la percepción del dolor, apoya la hipótesis de que bajo condiciones fisiológicas existe una liberación central de sustancias opiáceas, cuya acción puede ser bloqueada por la naloxona (Luján et al., 1984).

4. ADMINISTRACION CRONICA DE OPIOIDES - EFECTOS SOBRE RECEPTORES

Los efectos diferenciales de la administración crónica de agonistas y antagonistas sobre el receptor opioide, plantean que la presencia continua de concentraciones altas de agonistas producen una disminución en el número de receptores, ya sea por un aumento en la destrucción de los receptores, o por una inactivación por endocitosis. Se observa así una tendencia hacia la reducción en la capacidad del receptor opioide, lo que se conoce con el nombre de cataregulación. Por otro lado, impedir

la activación del receptor ya sea por deprivación del neurotransmisor, denervación o por la aplicación crónica de antagonistas, incrementa la capacidad del receptor y/o resulta en un aumento en el número de receptores. Este fenómeno se conoce con el nombre de anaregulación (Campos-Sepulveda et al., 1984).

La supersensibilidad por desuso provocada por fármacos, ya sea por inhibir la liberación del neurotransmisor o por bloqueo continuo del receptor postsináptico, sugiere que toda sustancia que previene la interacción del ligando endógeno con su receptor puede provocar supersensibilidad (Trendelenburg, 1965 citado por Medina et al., 1981).

5. TERATOLOGIA CONDUCTUAL

Los mecanismos que subyacen a estos efectos, plantean una acción directa sobre la interacción de los opioides endógenos con sus receptores. Existe evidencia de que, en los roedores, el desarrollo ontogenético de los receptores opioides y de los endopioides sigue un patrón definido, aumentando en número y afinidad conforme madura el sistema nervioso central (Clendenin et al., 1976; Bayon et al., 1979).

Lo anterior sugiere que, en condiciones de inmadurez de los sistemas opioides, la administración de opiáceos durante la gestación puede provocar alteraciones en el número y/o afinidad de los receptores opiáceos. Como consecuencia, se alterarían las funciones que posiblemente estén mediadas por los opiáceos endógenos.

Esta forma de abordar el problema no es novedosa. De hecho se sabe que la administración de fármacos durante el embarazo puede inducir, en el producto, alteraciones bioquímicas y morfológicas, siendo estas últimas las más conocidas. En los

años cincuentas surgió un problema que llamó la atención mundialmente: la administración de talidomida durante el primer trimestre del embarazo produjo alteraciones en el desarrollo de los miembros inferiores y superiores; alteración llamada focomelia. Este "accidente" hizo recomendable restringir el uso de los fármacos durante el embarazo.

Sin embargo, se prestó más atención a los efectos observables y fácilmente cuantificables, es decir, a los cambios que inducen los fármacos sobre el desarrollo morfológico, relegando el estudio de las alteraciones funcionales por la administración prenatal de fármacos. De esta manera, la teratología se restringió a estudiar anomalías morfológicas que surgen durante el desarrollo prenatal y prestó poca atención a las alteraciones bioquímicas de diversos sistemas orgánicos, así como a su resultante funcional. El desarrollo de numerosas sustancias químicas y el uso continuo de fármacos más específicos y potentes por parte de los individuos, condujo a tratar de relacionar algunos cambios conductuales observados en etapas avanzadas del desarrollo con la exposición a estas sustancias durante el desarrollo fetal.

5.1. LOS AGONISTAS OPIOIDES COMO AGENTES TERATOGENOS

5.1.1. ESTUDIOS CLINICOS

La involucración de los opioides como sustancias teratógenas se remonta hasta Hipócrates, quien relacionó al opio con la "asfixia uterina", refiriéndose tal vez a la toxicidad del opio sobre el embrión o feto. Después de 1800 surgieron varios reportes clínicos donde se evidenciaban los efectos teratógenos del opio. Los efectos reportados abarcaban desde una conducta anormal y exceso de "nerviosismo" en los infantes, hasta un aumento en la tasa de mortalidad (citado por Zagon y McLaughlin, 1964a).

Con la gran incidencia en el consumo de sustancias opioides y, a su vez, de infantes expuestos prenatalmente a opioides (1 de c/1000 en U.S.A.), la investigación en el campo de la teratología conductual ha prestado especial interés al infante en desarrollo, así como también a las consecuencias a largo plazo (Zagon y McLaughlin, 1984a).

En 1979, Wilson y sus colegas realizaron un estudio clínico en niños de 3 a 6 años de edad expuestos prenatalmente a opioides, y encontraron que los perfiles psicológicos reflejaban problemas como hiperactividad, fallas en la atención y en la coordinación motora fina, desadaptación social, temperamento incontrolable, impulsividad, falta de confianza en sí mismos, agresividad y dificultad en hacer y mantener amistades.

Sin embargo, puesto que los estudios clínicos se enfrentan con el problema de controlar una serie de variables extrañas, las cuales pueden estar determinando los efectos observados, gran parte de la investigación en esta área se ha realizado en animales de laboratorio, principalmente en la rata y el ratón, expuestos prenatal y/o perinatalmente a opioides.

5.1.2. RESPUESTA ANALGESICA

Con respecto a la respuesta analgésica, una de las que más atención ha recibido, se ha encontrado que la administración de morfina durante las primeras etapas de gestación (O'Callaghan y Holtzman, 1976,1977), al igual que durante los últimos días (Johannesson et al., 1973), producen tolerancia al efecto analgésico de la morfina en los productos. Este efecto se observa hasta las 11 semanas de vida postnatal. La administración perinatal (lactancia) también produce tolerancia en ratas de 30 días de edad (Zimmerman et al., 1974).

Por el contrario, Zagon y McLaughlin (1981) encuentran que las ratas expuestas perinatalmente a metadona presentan un aumento

en las latencias del plato caliente y un aumento en la respuesta analgésica ante la administración de metadona a los 120 días de edad. Dicho aumento en la sensibilidad a opioides es contrario a la tolerancia.

Por otro lado, Kirby (1982) demuestra que la exposición a morfina durante los días 12-21 de gestación en la rata, período que coincide con el mayor desarrollo de la médula espinal que contiene grandes cantidades de receptores opioides, no produce ningún efecto sobre las latencias en el plato caliente a los 30 días de edad. Sin embargo, al evaluar la respuesta analgésica mediante la técnica de sacudida de cola, sí se observa un aumento en la sensibilidad al efecto analgésico de la morfina a los 60 días. Estas diferencias se explican sobre la base de que la respuesta inducida en el plato caliente es una respuesta refleja que involucra participación supraespinal; mientras que la respuesta de sacudida de cola involucra un reflejo polisináptico mediado totalmente a nivel de la médula espinal (citado por Kirby, 1984).

5.1.3. ACTIVIDAD LOCOMOTORA

En relación a la actividad locomotora, se han reportado efectos diferenciales de la administración prenatal y perinatal de opioides, los cuales varían según el período de desarrollo en el que se evalúa la conducta. Durante el período de lactancia (0-21 días), Hutchings y cols. (1980) observan una disminución en los niveles de actividad como consecuencia de la exposición prenatal a metadona. Durante el período de destete (21-44 días), algunos autores reportan un aumento en la actividad ambulatoria después de la administración prenatal a morfina (Davis y Lin, 1972; Sobrian, 1977). Otros, por su parte, encuentran una disminución con la administración prenatal (Middaugh y Simpson,

1980) y con la administración perinatal de morfina (Zagon et al., 1979). En etapas más avanzadas (45-89 días), consistentemente se reporta un aumento marcado en la actividad locomotora, tanto con la exposición prenatal (Davis y Lin, 1972), como con la exposición perinatal a morfina (Zagon et al., 1979).

5.1.4. OTROS EFECTOS DE LOS AGONISTAS

Algunos otros efectos reportados son: dependencia pasiva de feto a opioides (Kirby y Holtzman, 1982); presencia del síndrome de abstinencia en el neonato (Sobrian, 1977); aumento en la tasa de mortalidad (Buchenauer et al., 1974); desórdenes del sueño (Dinges et al., 1980); retraso en el desarrollo sensoriomotor (Zagon y McLaughlin, 1978a); retraso en el crecimiento somático y tamaño cerebral reducido (Zagon y McLaughlin, 1977a); alteraciones en el aprendizaje (Middaugh y Simpson, 1980).

Sobre la conducta social, Thompson y Zagon (1982) observan que la administración prenatal, postnatal y pre-postnatal de metadona (5mg/Kg) produce una disminución en la dominancia social en ratas, durante el período de adulto maduro (90 días).

Como consecuencia de la exposición temprana a opioides, también se han reportado algunas alteraciones estructurales y bioquímicas: disminución en el número de neuronas, alteraciones en el contenido de RNA cerebral y concentración de proteínas (Zagon y McLaughlin 1978b). Asimismo, se observan, por un lado, cambios en el desarrollo ontogenético de los sistemas catecolaminérgicos, expresados a través de una disminución en los niveles de noradrenalina y dopamina durante la lactancia, que se recuperan a los 40 días de edad; y, por otro, un retraso en el desarrollo sináptico de las neuronas serotoninérgicas, dopaminérgicas y noradrenérgicas (McGinty y Ford, 1980). Morfológicamente, se observa una disminución en el grosor cortical y en el número de células en la neocorteza durante las dos primeras semanas de vida en la rata (Ford y Rhines, 1979).

5.2. LOS ANTAGONISTAS OPIOIDES COMO AGENTES TERATOGENOS

5.2.1. LA RESPUESTA ANALGESICA

Con respecto a la respuesta analgésica, Monder y cols. (1979) observan que la implantación de "pellets" de naloxona (20 y 60mg diarios) durante los últimos 5 días de la gestación, produce una disminución en las latencias en el plato caliente a los 50 días de edad en el ratón. Dicho efecto es mayor en las hembras que en los machos, lo que, estos autores, explican con base en las diferentes reacciones que produce el estrés inducido por la manipulación en machos y hembras.

Paul y cols. (1978) administran naltrexona durante el periodo de lactancia (días 3-20) a una dosis de 20mg/kg diarios hasta el día 14 y 60mg/kg hasta el día 20, y encuentran que al término de la lactancia las ratas tratadas no difieren de las control en las respuestas nociceptivas evaluadas a través del plato caliente y la sacudida de cola. Sin embargo, a los 29 días de edad se presenta un incremento anormal en la respuesta analgésica ante la administración de morfina, efecto que no se observa a los 42 días de edad.

Con el tratamiento prenatal con naloxona, Hetta y Terenius (1980) no observan ningún cambio en la respuesta nociceptiva (plato caliente) a los 30 días de edad en la rata, aunque a los 40 días estos animales presentan una mayor sensibilidad a la administración de morfina. La administración perinatal produce un aumento en los umbrales a la estimulación térmica en ratas de 90 días de edad (Sandman et al., 1979).

Por otro lado, no se observan cambios en la respuesta nociceptiva (sacudida de cola) en la rata adulta después de la administración prenatal de naloxona (Vorhees, 1981). En forma similar, Zagon y McLaughlin (1985a) tampoco encuentran

diferencias en la respuesta nociceptiva (plato caliente) con la administración perinatal de naltrexona (1 ó 50mg/Kg). Sin embargo, Medina y cols. (1981) encuentran que, la administración de naltrexona (10mg/Kg c/12 h.) durante los periodos de gestación y lactancia en el ratón, da lugar a productos más susceptibles al efecto nociceptivo de la acetilcolina a las 3 y 7 semanas de vida.

5.2.2. ACTIVIDAD LOCOMOTORA

En cuanto a la actividad motora, se ha encontrado que las dosis bajas (1mg/Kg) de antagonistas, administradas perinatalmente, producen un retraso en la aparición de habilidades motoras espontáneas, como movimientos simultáneos de la cabeza y de las extremidades anteriores y posteriores, así como en el girar, arrastrarse, caminar, etc. Por otro lado, las dosis altas (50mg/Kg) producen un adelanto en la aparición de estas conductas (Zagon y McLaughlin, 1985a).

La actividad en campo abierto (locomoción, erguido, autoaseo, defecación), evaluada a los 21 días, no varía en forma importante: sólo se observa un aumento en el auto aseo con las dosis bajas y una disminución con las dosis altas. La actividad locomotora, registrada en una caja de actividad con fotoceldas, no difiere en el grupo tratado perinatalmente con la dosis de 1mg/Kg de naltrexona; pero con la dosis de 50mg/Kg se observa un aumento del 32% a los 21 días (Zagon y McLaughlin, 1985a).

Harry y Rosecrans (1979) no observan diferencias entre las ratas tratadas prenatalmente con naltrexona (1mg/ml en agua) y el grupo control en la actividad locomotora evaluada a los 28 días de edad. Por otro lado, Medina y cols. (1981) encuentran que la administración de naltrexona (10mg/Kg c/12 h), durante los periodos de gestación y lactancia, produce un aumento en la actividad locomotora a las 3 y 7 semanas de vida.

5.2.3. PROCESOS DE DESARROLLO

Uno de los efectos que más consistentemente se ha observado con la administración prenatal y perinatal de antagonistas de opioides, es un adelanto en la aparición de algunas características del desarrollo. Vorhees (1981) reporta, después de la administración prenatal de naloxona (40mg/kg), un adelanto en la aparición de los incisivos superiores, en la capacidad de enderezamiento y de nado, facilitación de la respuesta de sobresalto y de orientación olfatoria entre los 3-21 días de edad.

De manera más específica, se ha observado que la administración de naltrexona durante el periodo de lactancia produce efectos estimulantes e inhibitorios sobre el desarrollo corporal y cerebral, los cuales son dosis dependientes. Así, la administración diaria de 50mg/kg de naltrexona, dosis que bloquea al receptor opioide durante 24 h, produce un aumento del 18% en el peso corporal y un aumento del 11-32% en el peso de diversos órganos (riñón, corazón, hígado, músculo esquelético) (Zagon y McLaughlin, 1985b). También se observa un adelanto en algunas características físicas como la apertura de ojos y orejas. La administración de 1mg/kg de naltrexona diaria, dosis que bloquea al receptor opioide durante 4-6 h, tiene efectos opuestos sobre el desarrollo (Zagon y McLaughlin, 1983a).

Los estudios macroscópicos, histológicos y morfométricos señalan que la administración de 50mg/kg de naltrexona durante el periodo de lactancia producen un aumento del 2-11% en las dimensiones del cerebro y cerebelo, observándose, en este último, un aumento en el contenido celular especialmente en áreas del lóbulo piramidal. Sin embargo, dicho aumento se observa en las poblaciones celulares cuyo desarrollo se presenta durante el periodo postnatal, ya que las células de Purkinje, las cuales se desarrollan prenatalmente, no se ven afectadas por el tratamiento perinatal (Zagon y McLaughlin, 1983b).

Los procesos de desarrollo que se ven afectados por la administración de antagonistas de opioides, parecen depender de la duración del bloqueo del receptor opioide. Los estudios que emplean dosis de naltrexona entre 0.1 y 100mg/kg demuestran que las dosis por abajo de 10mg/kg, las cuales bloquean al receptor opioide por menos de 12 horas diarias, tienen un efecto inhibitorio sobre el desarrollo. Las dosis de 20mg/kg en adelante, que bloquean al receptor opioide por 24 horas diarias, tienen un efecto estimulante sobre el desarrollo. Sin embargo, si se administran 3mg/kg de antagonista tres veces diarias, se bloquea al receptor por 24 horas y, por lo tanto, aumentan el desarrollo corporal y cerebral (Zagon y McLaughlin, 1984b).

6. DESARROLLO DE LAS RESPUESTAS MEDIADAS POR OPIOIDES

Como puede observarse, los efectos producidos por la administración de agonistas y antagonistas de opioides prenatal y perinatalmente pueden hacerse evidentes durante diferentes etapas del desarrollo, es decir, el desarrollo ontogenético de las conductas puede verse alterado de manera diferencial.

6.1. RESPUESTA ANALGESICA

Los estudios acerca del desarrollo ontogenético de la respuesta analgésica han proporcionado información relacionada con los posibles mecanismos implicados en los efectos observados. Spear y cols. (1985) reportan la presencia del efecto analgésico por administración de morfina en ratas de 6 días de edad. Sin embargo, dicho efecto no es revertido por la administración de naloxona. A pesar de que la funcionalidad del sistema opioide está presente en neonatos, se plantea que la ausencia de hiperalgesia se debe a que el sistema no se encuentra lo suficientemente activo como para ejercer una inhibición tónica del dolor.

Por otro lado, se ha observado que algunas manipulaciones ambientales, como el aislamiento, producen una activación del sistema opioide, lo que hace evidente el efecto hiperalgésico de la naioxona en el experimento anterior en neonatos. Estos autores también reportan la participación de los sistemas serotoninérgicos en la respuesta analgésica de los neonatos, observándose, igualmente, una activación de dichos sistemas con las manipulaciones ambientales.

En relación con el desarrollo posterior de la respuesta analgésica, Auguy-Valette y cols. (1978) encuentran un aumento en la sensibilidad a la administración de morfina entre los días 5 y 15 de edad, después de lo cual el efecto analgésico disminuye hasta estabilizarse en el día 30. En forma similar, Johannesson y Becker (1973) reportan que la sensibilidad es 10 veces mayor en las ratas de 20 días que en las adultas; mientras que a los 26 días la sensibilidad disminuye, siendo tres veces mayor que en las adultas.

Uno de los factores que se ha analizado en relación con los cambios en el efecto analgésico a lo largo del desarrollo ha sido las concentraciones plasmáticas y cerebrales de morfina, observándose una disminución con la edad. Las concentraciones cerebrales en la rata de 20 días son dos veces mayores que las de la rata de 26 días que, a su vez, presenta mayores concentraciones que la rata de 42 días, donde los niveles son similares a los de la rata adulta (Auguy-Valette et al., 1978).

La disminución en la sensibilidad al efecto analgésico observado entre los días 20 y 26, se correlaciona con la disminución en las concentraciones cerebrales de morfina, lo que ha sido explicado en términos del desarrollo de la barrera hematoencefálica durante este periodo. La disminución en la permeabilidad cerebral en las ratas de 26 días de edad posiblemente explique la disminución en el efecto analgésico de

la morfina. La presencia de una barrera hematoencefálica deficiente en las ratas de 20 días de edad, unida a las concentraciones plasmáticas mayores que en las ratas de 26 días, explican la presencia de concentraciones cerebrales altas (Johannesson y Becker, 1973).

6.2. ACTIVIDAD LOCOMOTORA

La ontogenia de la actividad locomotora en relación con los efectos de los opioides ha sido evaluada por Caza y Spear (1980), quienes reportan un efecto de depresión con la administración de 0.5, 1.0, 5.0mg/kg de morfina a los 10 días de edad. Posteriormente, a los 17 días, se presenta un aumento en la actividad locomotora con la dosis de 0.5mg/kg y una disminución con la dosis de 5.0mg/kg. A los 24 días no se observan efectos con ninguna de las dosis. En el animal adulto, Fog (1970) reporta que con la dosis de 0.1mg/kg no se produce ningún efecto, con 1.0mg/kg se produce un aumento en la actividad locomotora y con dosis de 5.0, 10 y mayores se produce una depresión.

La disminución en la actividad locomotora, que se presenta a los 10 días de edad, se correlaciona con el aumento en la sensibilidad al efecto analgésico en las ratas jóvenes reportado por Johannesson y Becker (1973). La ausencia de efectos a los 24 días puede deberse a las concentraciones bajas de morfina cerebral (Caza y Spear, 1980).

En 1982, Filibek y sus cols. estudian los cambios en la actividad locomotora producidos por la administración de morfina en el ratón a diferentes edades (8-60 días). Observan en los animales control un aumento en la actividad locomotora entre los días 16 y 22 con una disminución después de las tres semanas. En los animales tratados se observa un aumento entre los días 8 y 18, a las tres semanas se observa una disminución y,

posteriormente, se presenta un aumento marcado de la actividad entre los días 28 y 60. Dado que los mecanismos catecolaminérgicos pueden estar involucrados en los efectos de los opioides sobre la actividad locomotora, se plantea una posible alteración en la maduración de dichos sistemas.

7. DESARROLLO ONTOGENETICO DE LOS RECEPTORES OPIOIDES

Aunque se ha demostrado que la permeabilidad cerebral juega papel importante en los efectos inducidos por los opioides, el desarrollo ontogenético de los receptores opioides parece estar involucrado de manera directa con dichos efectos.

Algunos autores han reportado la presencia de los receptores opioides desde los 14 y 15 días de vida prenatal en la rata. Observan un aumento grande durante la última etapa de la gestación. Sin embargo, el incremento mayor se registra después del nacimiento (Clendenin et al., 1976; Coyle y Pert, 1976).

Con la identificación de diferentes poblaciones de receptores opioides algunos estudios han tratado de establecer la posibilidad de que presenten desarrollos ontogenéticos diferenciales. Tavani y cols. (1985) estudiaron el desarrollo postnatal de los receptores mu, delta y Kapa a los 3 y 15 días y a las 10 y 17 semanas. Encuentran que las proporciones relativas de cada uno de los sitios varían especialmente entre los 3 y 15 días de edad. Los sitios mu abarcan el 75% de los sitios totales a los 3 días y el 46-48% a los 15 días, 10 y 17 semanas. Los sitios Kapa varían mucho menos, observándose que abarcan entre el 20 y 28% de los sitios totales en cada una de las etapas de desarrollo. Los sitios delta, aunque no se detectan a los 3 días, constituyen el 26-31% de los sitios totales a los 15 días, 10 y 17 semanas.

8. DESARROLLO ONTOGENETICO DE LOS ENDOPIOIDES

Las endorfinas y encefalinas también presentan un desarrollo ontogenético temprano. Las endorfinas se detectan desde los 13 días de vida prenatal, mientras que las encefalinas aparecen tres días más tarde. El desarrollo prenatal posterior de las encefalinas es mayor. Igualmente, se observa que la distribución regional de ambos endopioides es diferente, lo que plantea cierta heterogeneidad en el desarrollo (Bayón et al., 1979).

El desarrollo postnatal de los sistemas encefalinérgicos ha sido estudiado de manera detallada por Patey y cols. (1980). Encuentran que las concentraciones de met y leu-encefalina en el estriado aumentan 11 veces entre el nacimiento y los 21 días de edad donde alcanzan sus niveles adultos. En la corteza cerebral, los niveles de met-encefalina aumentan 7 veces desde el nacimiento hasta la etapa adulta; mientras que la leu-encefalina se desarrolla más rápidamente con un aumento de 8 veces entre el nacimiento y los 21 días donde alcanza sus niveles adultos.

En relación a la densidad de los sitios de unión para las encefalinas, los autores reportan un aumento de 4-5 veces entre el nacimiento y los 28 días en el estriado; mientras que en la corteza aumentan 5 veces entre el nacimiento y la etapa adulta. Como ha sido reportado por otros autores (Pollard y cols. 1977, citado por Patey et al., 1980), el 30% de los receptores opioides estriatales están localizados en neuronas dopaminérgicas, las cuales presentan un aumento de 9 veces en su densidad entre el nacimiento y la etapa adulta. Esto indica que la mayor parte del incremento postnatal en los receptores opioides estriatales se explica por el desarrollo de las neuronas dopaminérgicas.

9. ONTOGENIA DE LOS SISTEMAS OPIOIDES Y LAS RESPUESTAS

Varios autores han reportado que la ontogenia de la respuesta analgésica se correlaciona con la ontogenia de los receptores. Zhang y Pasternak (1981) encuentran que el aumento en la sensibilidad al efecto analgésico que se presenta entre los 2 y 14 días de edad en la rata, se correlaciona con un incremento de 3 puntos en los sitios de alta afinidad durante las dos primeras semanas de vida.

Igualmente, Auguy-Valette et al (1978) reportan que el aumento en el efecto analgésico en los primeros 15 días se presenta en forma paralela con un aumento en el número de receptores opioides. La formación de la barrera hematoencefálica introduce un mecanismo más en la regulación de la actividad opioide.

Otra de las correlaciones que se ha sugerido a partir del desarrollo de los receptores opioides surge de la observación de que los efectos de la morfina sobre el metabolismo de catecolaminas estriatales se observan durante la segunda semana de vida postnatal, periodo en el cual se reporta la aparición de los receptores delta. Lo anterior plantea la participación de los receptores delta en los efectos mediados por la interacción opioides-catecolaminas (Wohltman et al., 1982).

10. EFECTOS TERATOGENOS SOBRE LOS RECEPTORES OPIOIDES

En relación con los cambios a nivel del receptor opioide como consecuencia de la administración prenatal de agonistas y antagonistas, Coyle y Pert (1976) reportan que la administración de naloxona (20mg/kg c/12 h) y de morfina (10mg/kg c/12 h), durante la última semana de la gestación en la rata, no altera significativamente la unión estereoespecífica de naloxona marcada en los cerebros de los productos.

Sin embargo, Tsang y NG (1980) analizan los efectos de la administración de morfina (10mg/kg c/8 h) y de naloxona (5mg/kg c/8 h), una semana antes del apareamiento y durante todo el periodo de gestación, sobre los sitios de unión para la met-enkefalina marcada. Encuentran que la administración de morfina produce un aumento transitorio en los sitios de unión en el cerebro anterior, tallo cerebral y cerebelo durante la primera semana de vida; mientras que la administración de naloxona sólo produce un aumento transitorio en la unión en el tallo cerebral. Durante las siguientes tres semanas de vida, ambos fármacos disminuyen la cantidad de unión en el cerebro anterior y tallo cerebral, pero no en el cerebelo.

El hecho de que la administración de opioides durante la última semana de gestación no se asocie con alteraciones en los sitios de unión como lo reportan Coyle y Pert (1976), y que la administración antes y durante la gestación produzca una clara alteración (Tsang y NG, 1980), sugieren que los opioides ejercen sus efectos farmacológicos sobre el desarrollo del sistema nervioso central durante las etapas tempranas de desarrollo.

En síntesis, las evidencias que señalan la presencia de los receptores opioides y de los opioides endógenos desde las etapas tempranas del desarrollo prenatal, sugieren que la administración de antagonistas de opioides durante la gestación puede provocar alteraciones en el número y/o afinidad de los receptores opioides, posiblemente a través de un fenómeno de supersensibilidad. Como consecuencia, se alterarían las posibles funciones mediadas por los opioides endógenos.

OBJETIVOS

1. Establecer el efecto que produce la administración prenatal de naltrexona sobre el desarrollo de la conducta social a lo largo de las diferentes etapas de maduración hasta llegar a la etapa adulta.
2. Establecer el efecto que produce la administración prenatal de naltrexona sobre la susceptibilidad al dolor durante el desarrollo.
3. Establecer el efecto que produce la administración prenatal de naltrexona sobre la actividad locomotora durante el desarrollo.
4. Determinar los efectos de la administración prenatal de naltrexona sobre la sensibilidad a la morfina y naloxona usando la preparación de vas deferens de ratón.

HIPOTESIS

La administración prenatal de naltrexona produce una alteración permanente y específica sobre las funciones que regulan los sistemas opiopeptidérgicos.

MATERIAL Y METODOS

SUJETOS

Se utilizaron 60 ratones hembras de la cepa CD-1 con un peso promedio de 30-35 gr, las cuales permanecieron aisladas durante 8 días a su llegada al laboratorio, bajo un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas y con alimentación y agua ad libitum.

PROCEDIMIENTO

Al inicio del experimento se colocaron 5 hembras y 1 macho de la misma cepa, por jaula durante 5 días, después de lo cual la presencia de tapón espermático en la vagina de las hembras se consideró como el día cero de la gestación. Los ratones hembras preñadas permanecieron aisladas y se distribuyeron al azar en dos grupos para ser sometidas al siguiente tratamiento:

Grupo Nx: Recibió por vía subcutánea naltrexona a una dosis de 10mg/kg cada 12 horas.

Grupo S : Recibió por vía subcutánea solución salina 0.9% a dosis de 0.10 ml por 10 gr de peso cada 12 horas.

Dicho tratamiento se mantuvo de principio a fin de la etapa de gestación (21 días). Durante este periodo y el restante del experimento los animales estuvieron bajo un ciclo de luz-oscuridad de 12 hrs y a libre demanda de alimento y agua.

Registros Conductuales

El desarrollo conductual de los productos se evaluó de la siguiente manera: durante la última semana del periodo de lactancia (2 - 3 semanas) se realizó un registro de la conducta social y de la actividad locomotora por camada. Durante los periodos de destete (3 - 6 semanas), adulto joven (6 - 9 semanas), y adulto maduro (9 - 12 semanas) se registraron la actividad locomotora, la respuesta nociceptiva y la conducta social.

Registro de la Actividad Locomotora - Lactancia

El registro de la actividad locomotora espontánea durante el periodo de lactancia se llevó a cabo en la jaula donde se

encontraban los productos con la madre desde el nacimiento. Se colocó, sobre la jaula, una hoja de plástico transparente (30 x 18 cm) dividida en 18 cuadros (6 x 5 cm). Posteriormente, se contó el número de cuadros cruzados por cada animal durante un periodo de 5 min (10 registros de 30 seg cada uno) por día. Se obtuvo el promedio general y esta medida constituyó el indicador de actividad locomotora.

Registro de la Conducta Social - Lactancia

El registro de la conducta social durante el periodo de lactancia también se realizó en la jaula donde se encontraban los productos desde el nacimiento. Se registró la frecuencia de algunas conductas como el husmeo, aseo social, erguido y autoaseo. La frecuencia promedio de cada una de estas conductas emitidas por los animales durante un periodo de 5 min (5 observaciones de 1 min cada una) constituyó la medida de actividad social.

Registro de la Actividad Locomotora - Desarrollo Posterior

La actividad locomotora durante los periodos de destete, adulto joven y adulto maduro se registró por medio de un sistema electrónico de cuantificación de actividad locomotora equipado con 4 fotoceldas, (SECAL). La duración del registro fue de 60 min, a intervalos de 4 min. Los animales se colocaron en forma individual en cajas circulares de 30 cm de diámetro ubicadas en el interior de una cámara sonoamortiguada.

Medición de la Respuesta Analgésica - Desarrollo Posterior

El registro de la respuesta analgésica durante los periodos de destete, adulto joven y adulto maduro se llevó a cabo midiendo

la respuesta nociceptiva através de la técnica del plato caliente (54 grados C.), descrita por Eddy y Leimbach en 1953. Se tomaron como variables de respuesta el tiempo que transcurre desde que se coloca al ratón en el plato caliente hasta que se lame las patas traseras y delanteras y, hasta que salta. El tiempo máximo de medida fué de 60 seg para evitar lesiones.

Registro de la Conducta Social - Desarrollo Posterior

El registro de la conducta social en cada uno de los periodos de desarrollo se realizó en grupos de 5 ratones distribuidos por sexo y con el mismo tratamiento prenatal. La distribución se hizo al azar teniendo en cuenta que los grupos debían estar formados por ratones de distintas camadas. Durante cada periodo se hicieron dos observaciones durante 5 días consecutivos, después de lo cual se aislaba a los ratones durante 2 semanas hasta el siguiente periodo de observación, donde se seguía el mismo procedimiento. Se observó a cada uno de los ratones del grupo en forma individual, registrando las conductas que emitía durante un periodo de 60 seg (6 observaciones de 10 seg cada una) dos veces al día (8:00 am y 6:00 pm). Los ratones fueron colocados en jaulas grandes (18 x 28 x 14 cm.) con agua y comida ad libitum desde el primero hasta el último día de observación.

Se registraron 4 categorías de conducta: conductas no sociales, sociales, afiliativas-dispersivas, agresivas y defensivas. Estas conductas estaban constituidas por conductas específicas según lo propuesto por Jones y Brain, 1985 (ver Apéndice I).

Procedimiento - Preparación Vas Deferens

Después de haber terminado el registro de las conductas, y a la edad de 15 semanas, se determinaron los efectos que produjo

la administración prenatal de naltrexona sobre la sensibilidad a la morfina y a la naloxona mediante la preparación de vas deferens, siguiendo el procedimiento que a continuación se describe.

Los ratones machos tratados prenatalmente con naltrexona y los ratones control fueron sacrificados por dislocación cervical. Se disecó el vas deferens y se colocó en una caja de petri con solución de Krebs.* Después, se montó el tejido verticalmente, sometiéndolo a 1 gm de tensión en un baño de 20ml con solución Krebs a 37 grados C, el cual se estuvo renovando continuamente (goteo continuo).

El tejido se dejó en condiciones basales durante 30 min, después de lo cual, el vas deferens fue estimulado. El campo se estimuló con las siguientes características: frecuencia de trenes de 20 TPS (trenes por seg.) con una duración de 2.5 seg cada 30 seg. y a un voltaje de 40-50v. Una vez que las contracciones presentaron un patrón regular, se procedió, previa suspensión del goteo, a la administración de dosis progresivas de morfina a concentraciones molares de 1×10^{-5} , 1×10^{-4} , 1×10^{-6} , 1×10^{-7} .

Las curvas dosis-respuesta se iniciaron con las dosis menores, las cuales se administraron directamente al baño en un volumen final de 100ul. Inmediatamente después se observó la respuesta (inhibición de las contracciones) y, una vez que se obtuvo la respuesta máxima, se procedió a lavar el tejido suspendiendo la estimulación eléctrica. En todos los casos se mantuvo un período de 10 min. de reposo-lavado antes de iniciar la administración de otra dosis. Después de que se administró la dosis mayor y que se obtuvo la respuesta máxima, se añadió naloxona directamente al baño a una concentración de 3.8×10^{-6} M.

* Solución de Krebs (mM): NaCl 118, KCl 4.75, KH₂PO₄ 0.93, CaCl₂ 2.54, MgSO₄ 0.7, H₂O 1.19, glucosa 11, NaHCO₃ 25, burbujeada con 95% O₂ y 5% CO₂.

PROCEDIMIENTO GENERAL

En la siguiente tabla se ilustra, de manera general, el procedimiento que se siguió durante el experimento.

ETAPA DE DESARROLLO	TRATAMIENTO	REGISTRO
ETAPA PRENATAL	Naltrexona (10mg/kg c/12 h.)	
LACTANCIA (0-3 sem.)		Peso Corporal Actividad Locomotora Conducta Social
DESTETE (5-6 sem.)		Conducta Social Actividad Locomotora Analgesia
AD. JOVEN (8-9 sem.)		Conducta Social Actividad Locomotora Analgesia
AD. MADURO (11-12 sem.)		Conducta Social Actividad Locomotora Analgesia
14 semanas		Vas Deferens

ANALISIS DE RESULTADOS

Actividad Locomotora

El número de interrupciones de las fotoceldas a intervalos de 4 min, es decir el número de cuentas de actividad locomotora, se analizó mediante la prueba T de Student para dos vías. Se compararon así, el número de cuentas totales (1 hora de registro) y, con el fin de establecer un análisis más detallado, también se compararon el número de cuentas registradas durante los primeros y segundos 30 minutos. Estas comparaciones se realizaron, entre los grupos, durante cada uno de los periodos de desarrollo así como, entre los periodos, en cada uno de los grupos.

Respuesta Analgésica

El análisis de la respuesta analgésica se realizó comparando, en forma independiente las latencias en el lamido de patas y las latencias en el salto. Se realizaron comparaciones entre los grupos, durante cada uno de los periodos de desarrollo y, entre los periodos, en cada uno de los grupos. Este análisis se llevó a cabo mediante la prueba T de Student para dos vías.

Conducta Social

Las frecuencias por hora de registro de conducta social se compararon mediante el análisis de varianza de dos vías, teniendo en cuenta al tratamiento y a los periodos de desarrollo. La variable sexo no se tuvo en cuenta para el análisis de los resultados ya que el número de hembras era muy reducido. Las conductas clasificadas como no sociales se analizaron en forma independiente cada una al igual que las conductas afiliativas-dispersivas (aislamiento y hacinamiento). Las conductas sociales, agresivas y defensivas se analizaron en forma global.

Vas Deferens

Los registros obtenidos fueron analizados de la siguiente manera: para cada una de las dosis se determinó el porcentaje de inhibición producido por la administración de morfina. Con estos datos se construyó una curva dosis-respuesta en la cual se graficó el promedio del porcentaje de inhibición de cada una de las dosis. Posteriormente, se realizó un ajuste de las curvas mediante un análisis de regresión lineal. El siguiente paso fue la determinación de las DE_{50} (dosis efectiva media) para cada uno de los grupos mediante el método gráfico de Tainter-Miller. Después se calculó la potencia relativa considerando que esta es el cociente de la DE_{50} mayor entre la DE_{50} menor.

Con el fin de establecer las posibles diferencias entre las respuestas del vas deferens a la administración de naloxona y solución salina, se aplicó una prueba de T de Student para dos vías.

RESULTADOS

PERIODO DE LACTANCIA

En relación al peso corporal, se observa un aumento significativo ($p < 0.05$) en el grupo tratado, al término de la lactancia. El peso promedio de los machos tratados fue de 10.95 gm, mientras que el peso de los machos control fue de 9.32 gm. En el mismo sentido, el peso corporal de las hembras tratadas fue de 11.25 gm y el de las hembras control fue de 9.44 gm.

El análisis estadístico de los registros conductuales señala que los ratones tratados no difieren del grupo control en los variables evaluadas, aunque puede observarse que las frecuencias del grupo tratado son mayores que las del grupo control en todas las conductas (tabla 1).

REGISTROS CONDUCTUALES EN LA LACTANCIA

	NALTREXONA	SOL. SALINA
ACTIVIDAD LOCOMOTORA	7.75 \pm 1.48	4.61 \pm 0.96
AUTO-ASEO	2.02 \pm 0.30	1.67 \pm 0.43
ASEO SOCIAL	0.89 \pm 0.10	0.58 \pm 0.04
ERGUIDO	1.01 \pm 0.23	0.92 \pm 0.18
HUSMED	2.99 \pm 0.30	2.18 \pm 0.33

Tabla 1

No se observaron diferencias entre los grupos en las frecuencias promedio (media \pm error estándar) de las conductas registradas.

ACTIVIDAD LOCOMOTORA

El análisis de los registros de actividad locomotora total durante cada uno de los periodos de desarrollo demuestra que el grupo de ratones tratados prenatalmente con naltrexona presentó un aumento significativo ($p < .05$) de la actividad locomotora durante los periodos del destete y adulto maduro. En el periodo intermedio (adulto joven) los niveles de actividad locomotora fueron iguales en ambos grupos.

Sin embargo, al analizar en forma separada la actividad locomotora durante los primeros y segundos 30 min del registro se determinó donde se encontraban las diferencias observadas en la actividad locomotora total (tabla 2).

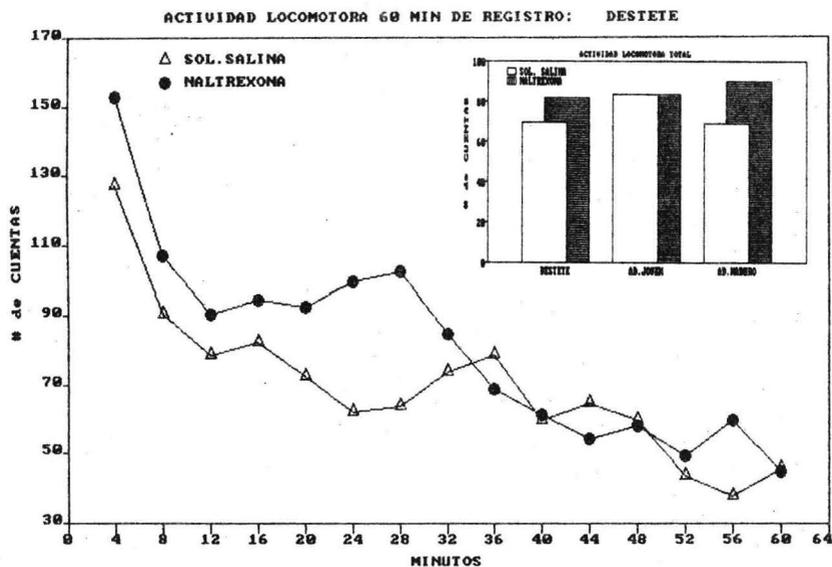
ACTIVIDAD LOCOMOTORA

		DESTETE	AD. JOVEN	AD. MADURO
TOTAL	NALT	81.51 + 4.3* n=10	83.45 + 3.91 n=9	89.80 + 4.14* n=7
	SAL	69.37 + 3.2 n=11	83.75 + 3.45 n=9	68.66 + 3.61 n=8
1-30	NALT	97.74 + 6.0* n=10	103.2 + 5.14 n=9	99.12 + 5.5* n=7
	SAL	76.76 + 3.9 n=11	97.93 + 5.30 n=9	74.93 + 5.38 n=8
31-60	NALT	55.09 + 4.5 n=10	53.27 + 3.94 n=9	69.25 + 5.09* n=7
	SAL	53.31 + 4.3 n=11	58.69 + 2.88 n=9	53.65 + 4.13 n=8

Tabla 2

Se observó un aumento significativo (* $p < .05$) de la actividad locomotora total, el cual se presentó durante la primera (1-30) y/o segunda (31-60) parte del registro. Los datos expresan la media \pm el error estándar.

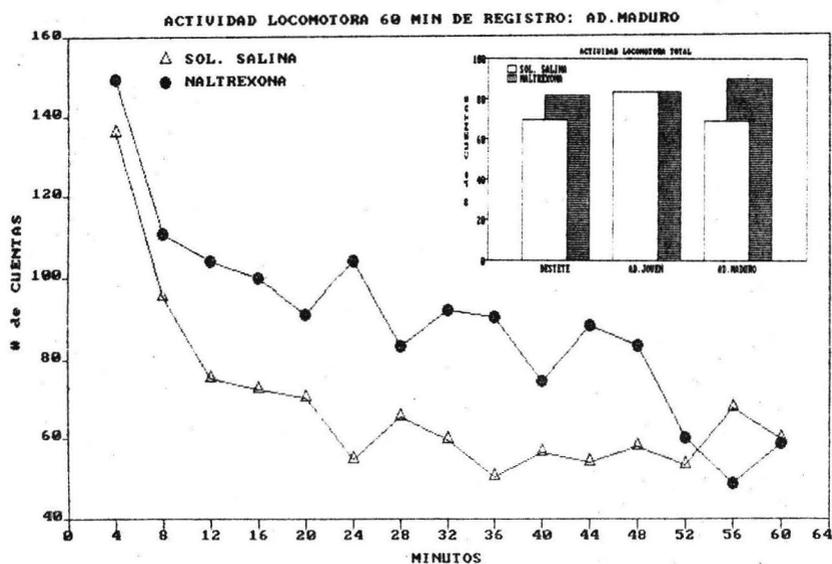
El aumento total de actividad locomotora durante el periodo del destete se debió principalmente a la presencia de un aumento significativo de la actividad locomotora durante los primeros 30 min del registro ($p < .05$), ya que durante los segundos 30 min no se presentaron diferencias significativas entre los grupos (Gráfica 1).



Gráfica 1

Durante el periodo del destete (5-6 semanas) los animales tratados, presentaron un aumento de la actividad locomotora que se observó en los primeros 30 minutos del registro y no en los segundos 30 min.

Durante el periodo de adulto maduro el aumento observado en la actividad locomotora total se traduce en un aumento significativo ($p < .05$) en el número de cuentas durante casi toda la hora del registro. (Gráfica 2)



Gráfica 2

Durante el periodo de adulto maduro (11-12 semanas), el aumento ($p < .05$) en la actividad locomotora, se presentó durante 52 min.

DESARROLLO ONTOGENETICO DE LA ACTIVIDAD LOCOMOTORA

El patrón de desarrollo de la actividad locomotora en el grupo tratado prenatalmente con naltrexona, difiere del que presenta el grupo control. Se observó, en el primer caso, un aumento

gradual, mientras que los cambios en el grupo control fueron mayores. En el grupo control la actividad, durante los periodos del destete y adulto maduro, está disminuida a niveles muy semejantes con el pico de mayor actividad durante el periodo de adulto joven. Durante este periodo el grupo tratado presenta niveles de actividad semejantes a los del grupo control (Gráfica 3).



Gráfica 3
 Los ratones tratados prenatalmente con naltrexona presentaron un patrón de desarrollo ontogenético de la actividad locomotora diferente del grupo control especialmente en lo que respecta a los periodos inicial y final de desarrollo.

ANALGESIA

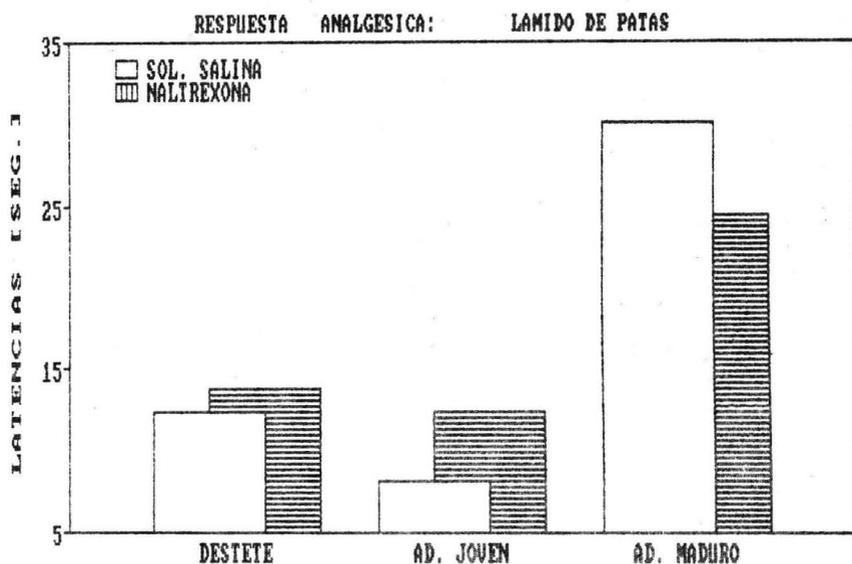
La medición de la respuesta nociceptiva se realizó através de la técnica del plato caliente teniendo en cuenta las latencias en el lamido de patas y las latencias en el salto. Los resultados señalan que, en relación a las latencias en el lamido de patas, la única diferencia se presenta en el periodo de adulto joven (8-9 semanas). Se observa un aumento significativo ($p < 0.05$) en el grupo de animales tratados prenatalmente con naltrexona. Con respecto a las latencias en el salto no se observan diferencias significativas en ninguna de las etapas de desarrollo (tabla 3).

RESPUESTA NOCICEPTIVA

	DESTETE	AD. JOVEN	AD. MADURO
LAM	NALT 13.18 ± 0.77 n=10	12.14 ± 1.04*	24.38 ± 5.38 n=8
	SAL 12.45 ± 1.4 n=9	8.25 ± 0.56 n=10	30.11 ± 8.43 n=7
SALT	NALT 60	55.96 ± 2.69	49.8 ± 6.43
	SAL 60	55.14 ± 2.85	39.55 ± 6.94

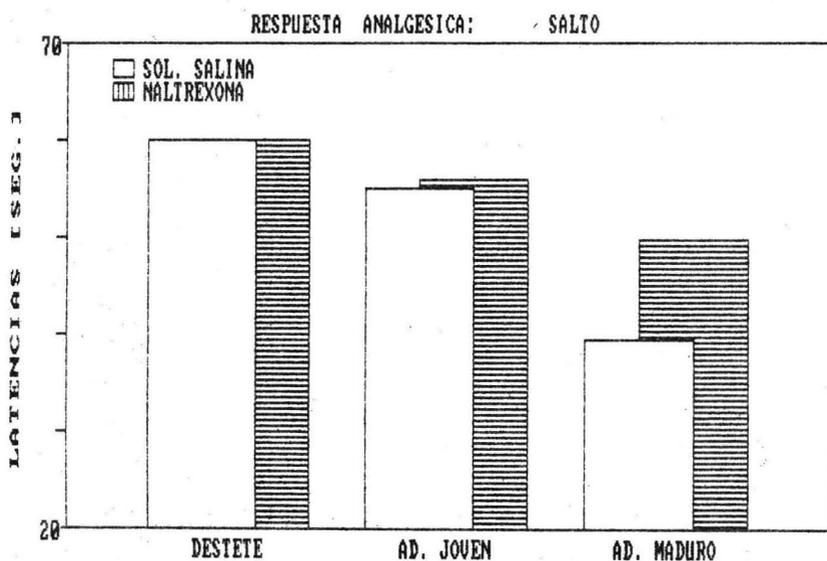
Tabla 3
Se observan las medias ± el error estándar que se presentaron en las latencias del lamido (LAM) y el salto (SALT). Durante el periodo de adulto joven se encontró un aumento significativo (* $p < 0.05$) en las latencias del lamido de patas.

Como se ilustra en la Gráfica 4, el grupo tratado presentó un aumento significativo ($p < 0.05$) durante el periodo de adulto joven, en las latencias en el lamido de patas. Las diferencias que se presentaron en los periodos del destete y adulto maduro no fueron significativas.



Gráfica 4
 Las latencias en el lamido de patas fueron significativamente mayores en el grupo tratado que en el grupo control durante el periodo de adulto joven (8-9 semanas). La diferencia que se observó durante el periodo de adulto maduro no fue significativa.

La respuesta de salto ante la estimulación nociceptiva no difiere entre los grupos en ninguno de los periodos de desarrollo (Gráfica 5).



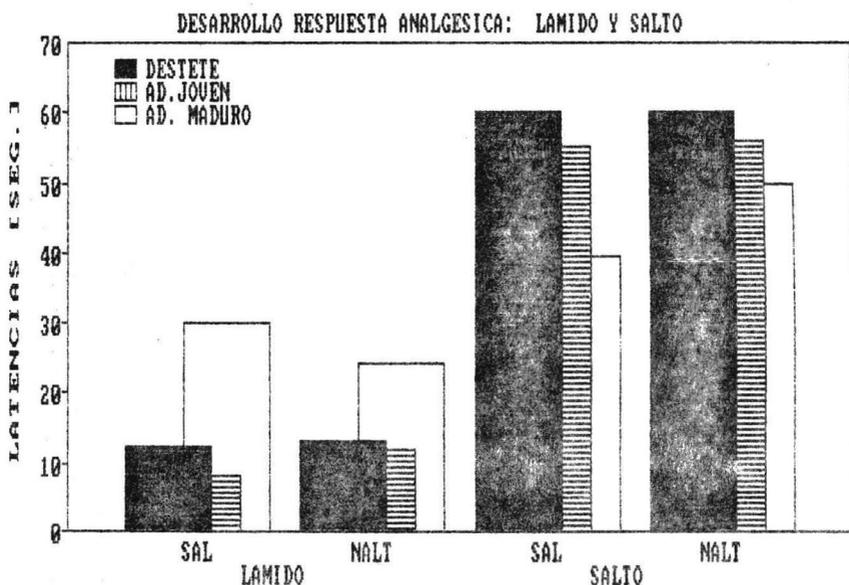
Gráfica 5

No se observaron diferencias significativas en las latencias del salto durante cada uno de los periodos de desarrollo.

El desarrollo ontogenético de la respuesta analgésica (lamido de patas) siguió un patrón de desarrollo semejante al del grupo control, observándose una disminución en las latencias entre los dos primeros periodos, seguida de un aumento final. Sin embargo, la disminución inicial que se presentó en el grupo tratado fue una disminución leve y no significativa, mientras que en el grupo control dicha disminución fue significativa

($p < .05$). Se observó un aumento final significativo en ambos grupos ($p < .05$), aunque las latencias alcanzadas fueron levemente menores en el grupo tratado (Gráfica 6).

Con respecto al desarrollo ontogenético de la respuesta de salto el patrón es similar en ambos grupos, presentándose una disminución en las latencias a lo largo de las etapas. Sin embargo, la disminución entre los periodos de adulto joven y adulto maduro fue menor en el grupo tratado que en el grupo control (Gráfica 6).



Gráfica 6

El desarrollo ontogenético de la respuesta analgésica en el grupo tratado prenatalmente con naltrexona siguió un patrón similar al del grupo control, tanto en las latencias del lamido como del salto, aunque los cambios que presentó, fueron menores.

CONDUCTA SOCIAL

MACHOS

El análisis de los registros conductuales realizados a lo largo del desarrollo, en los ratones machos tratados prenatalmente con naltrexona, señala que estos difieren significativamente del grupo control en algunas de las conductas registradas (Tabla 4).

Específicamente, las diferencias que se observaron fueron: una disminución significictiva ($p < .05$) en algunas conductas no sociales como el escudriñar y alimentación durante el periodo de adulto joven, y del auto-aseo durante los periodos de adulto joven y adulto maduro. En las conductas afiliativas-dispersivas se observó una disminución en el aislamiento durante los dos ultimos periodos y en las conductas agresivas, una disminución durante el periodo de adulto maduro (Gráfica 7).

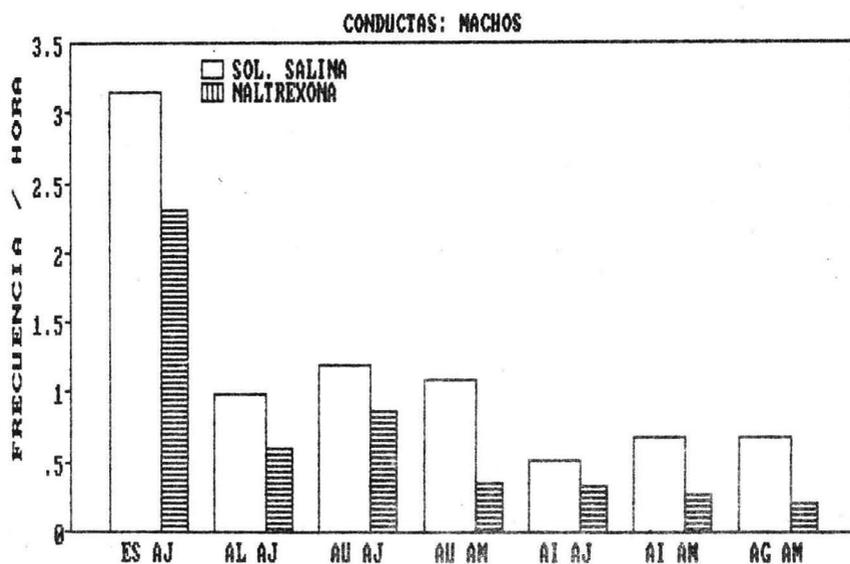
En relación a las conductas sociales, se observó que los ratones machos tratados presentaron un aumento significativo ($p < .05$) durante el primer periodo de desarrollo y una disminución significativa ($P < .05$) durante el ultimo periodo (Gráfica 8).

CONDUCTAS: MACHOS

	DESTETE	AD. JOVEN	AD. MADURO
NALT	0.99 ± 0.14 n=10	2.30 ± 0.19 n=12	2.30 ± 0.18 n=12
ESCUD		*	
SAL	0.96 ± 0.13 n=10	3.15 ± 0.09 n=10	2.32 ± 0.15 n=10
NALT	0.44 ± 0.07	0.59 ± 0.06	0.58 ± 0.08
ALIME		*	
SAL	0.68 ± 0.13	0.97 ± 0.12	0.72 ± 0.17
NALT	0.45 ± 0.06	0.86 ± 0.07	0.35 ± 0.07
AUA		*	*
SAL	0.49 ± 0.06	1.20 ± 0.09	1.11 ± 0.13
NALT	0.26 ± 0.06	0.33 ± 0.06	0.28 ± 0.06
AIS		*	*
SAL	0.27 ± 0.07	0.51 ± 0.07	0.68 ± 0.14
NALT	0.87 ± 0.12	1.18 ± 0.13	1.01 ± 0.12
SOC		*	*
SAL	0.73 ± 0.09	1.11 ± 0.15	1.12 ± 0.20
NALT		0.38 ± 0.11	0.19 ± 0.08
AGRE			*
SAL		0.15 ± 0.07	0.67 ± 0.04

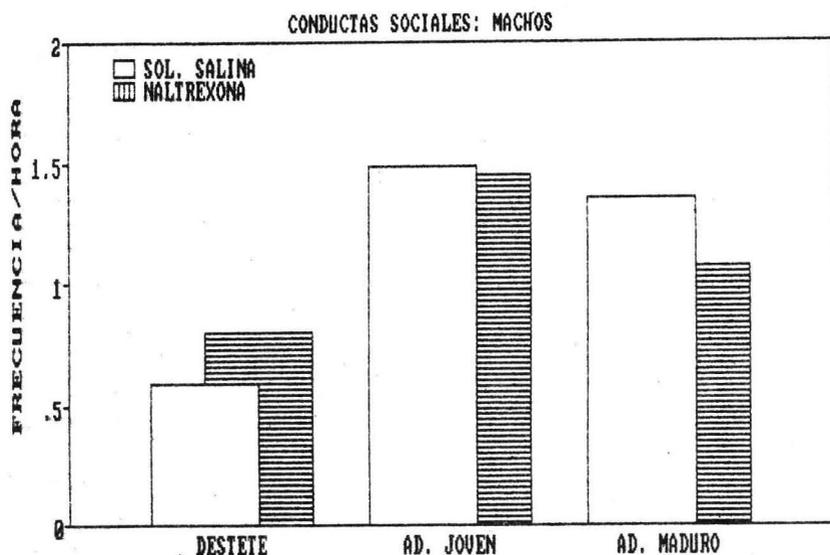
Tabla 4

Los resultados de los registros conductuales en los ratones machos están expresados por la media + error estándar. Se señalan las diferencias significativas entre los grupos (* p<.05) en las conductas: escudriñar (ESCUD), alimentación (ALIME), auto-aseo (AUA), aislamiento (AIS), conductas sociales (SOC), conductas agresivas (AGRE).



Gráfica 7

Se observan las conductas que fueron significativamente ($p < .05$) diferentes en los ratones machos tratados prenatalmente con naltrexona. Escudriñación Ad. Joven (ES AJ), alimentación Ad. Joven (AL AJ), auto-aseo Ad. Joven y Ad. Maduro (AU AJ, AU AM), aislamiento Ad. Joven y Ad. Maduro (AI AJ, AI AM), conductas agresivas Ad. Maduro (AG AM).



Gráfica 8

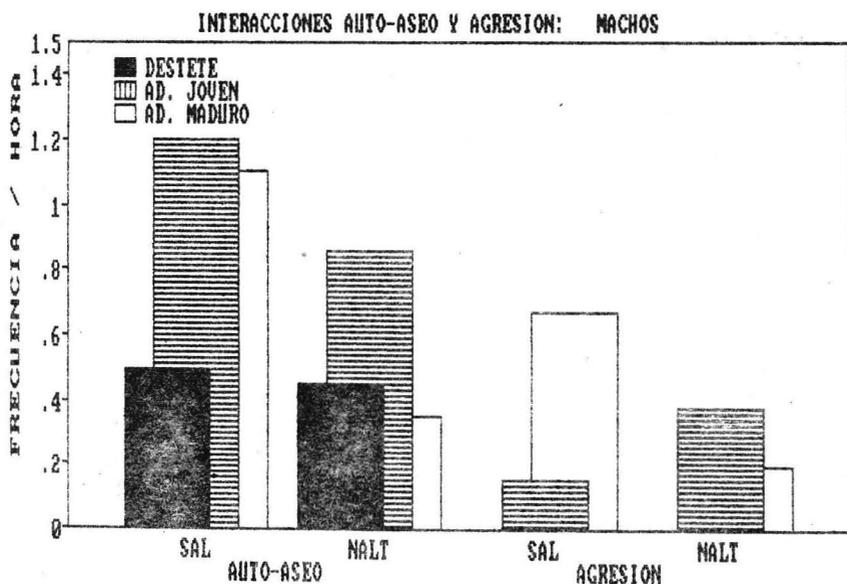
Se observó un aumento significativo ($p < .05$) durante el periodo del destete (5-6 semanas) y una disminución significativa ($p < .05$) durante el periodo de adulto maduro (11-12 semanas) en las conductas sociales de los ratones machos tratados prenatalmente con naltrexona.

INTERACCIONES SIGNIFICATIVAS

La aplicación del análisis de varianza plantea una interacción significativa ($p < .05$) entre el tratamiento y el desarrollo en algunas de las conductas registradas en los ratones machos. En la conducta de auto-aseo se observó que los niveles registrados en el grupo tratado fueron, en general, menores a los del grupo

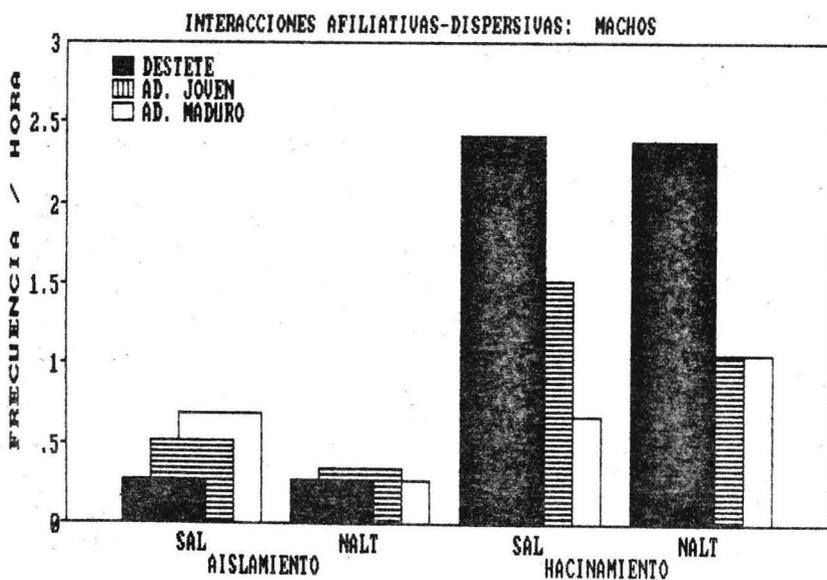
control. Los cambios que se presentaron fueron mayores, específicamente en lo que respecta a la disminución en la conducta de auto-aseo durante el último periodo de desarrollo (Gráfica 9).

En las conductas agresivas se observó que el grupo tratado presentó un patrón de desarrollo completamente diferente al del grupo control. Durante el periodo de adulto joven se presentaron los niveles más altos de agresión y durante el periodo de adulto maduro los de menor agresión, observándose lo contrario en el grupo control (Gráfica 9).



Gráfica 9
 Los patrones de desarrollo de las conductas de auto-aseo y agresión en ambos grupos presentaron interacciones significativas ($p < .05$).

También se observaron interacciones significativas en las conductas afiliativas-dispersivas. En cuanto al aislamiento, las variaciones que presentó el grupo tratado a lo largo del desarrollo fueron mínimas y sus niveles reducidos en contraposición con el grupo control, que presentó variaciones significativas y niveles crecientes de aislamiento. En el hacinamiento se observaron diferencias ya que la disminución gradual que presentó el grupo control no se observó en el grupo tratado (Gráfica 10).



Gráfica 10

Los patrones de desarrollo de las conductas afiliativas-dispersivas (aislamiento y hacinamiento) presentaron interacciones significativas ($p < .05$).

CONDUCTA SOCIAL: HEMBRAS

Las diferencias que se observaron en los ratones hembras tratadas prenatalmente con naltrexona se refieren en su gran mayoría a las conductas clasificadas como no sociales. Dichas diferencias se presentaron todas en el periodo del destete, observándose una disminución significativa ($p < .05$) en las conductas de exploración, escudriñación y alimentación y, un aumento significativo ($p < .05$) en la conducta de descanso (Tabla 5).

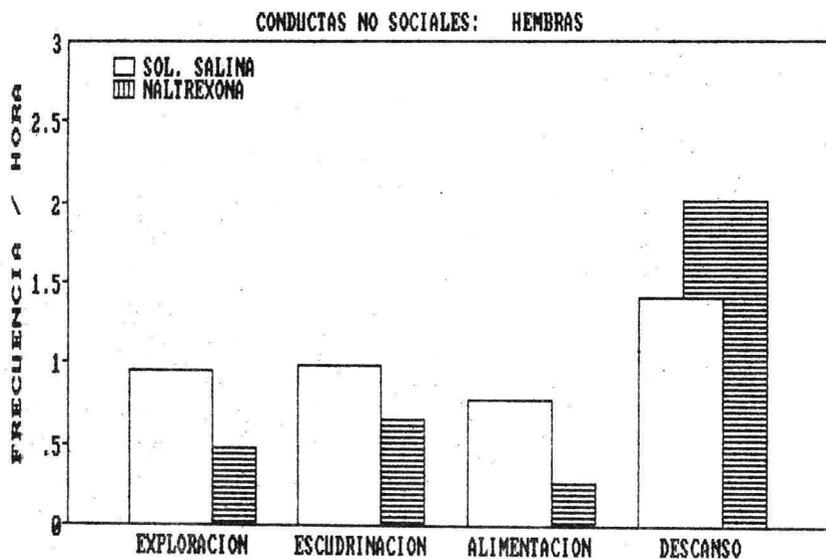
CONDUCTAS HEMBRAS

	DESTETE	AD. JOVEN	AD. MADURO
EXPLD	NALT	0.47 ± 0.08	2.60 ± 0.18
		n=10 *	n=7
	SAL	0.96 ± 0.15	2.66 ± 0.26
		n=10	n=5
ESCUD	NALT	0.66 ± 0.13	3.0 ± 0.12
		*	3.0 ± 0.26
	SAL	0.98 ± 0.16	3.12 ± 0.15
			3.02 ± 0.10
ALIME	NALT	0.27 ± 0.07	0.84 ± 0.16
		*	0.26 ± 0.07
	SAL	0.77 ± 0.17	0.72 ± 0.09
			0.45 ± 0.09
DESC	NALT	2.02 ± 0.25	1.02 ± 0.16
		*	0.44 ± 0.17
	SAL	1.41 ± 0.16	1.13 ± 0.39
			0.31 ± 0.07
SOC	NALT	0.83 ± 0.09	1.29 ± 0.16
			*
	SAL	0.96 ± 0.15	1.11 ± 0.15
			1.12 ± 0.14

Tabla 5

Los resultados de los registros conductuales en los ratones hembras están expresados por la media + error estándar. Se señalan las diferencias significativas entre los grupos (* $p < .05$) en las conductas de exploración (EXPLD), escudriñación (ESCUD), alimentación (ALIME), descanso (DESC) y conductas sociales (SOC).

En la gráfica 11 se ilustran los cambios que presentan los ratones hembras en las conductas no sociales durante el periodo del destete.



Gráfica 11

Algunas conductas no sociales como la exploración, escudrinación, alimentación y descanso, presentaron diferencias significativas ($p < .05$) entre las hembras tratadas y las control, durante el periodo del destete.

En relación con las conductas clasificadas como sociales, puede observarse que los ratones hembras tratados prenatalmente con naltrexona presentaron un aumento significativo ($p < .05$) durante los periodos de adulto joven y adulto maduro (Gráfica 12).

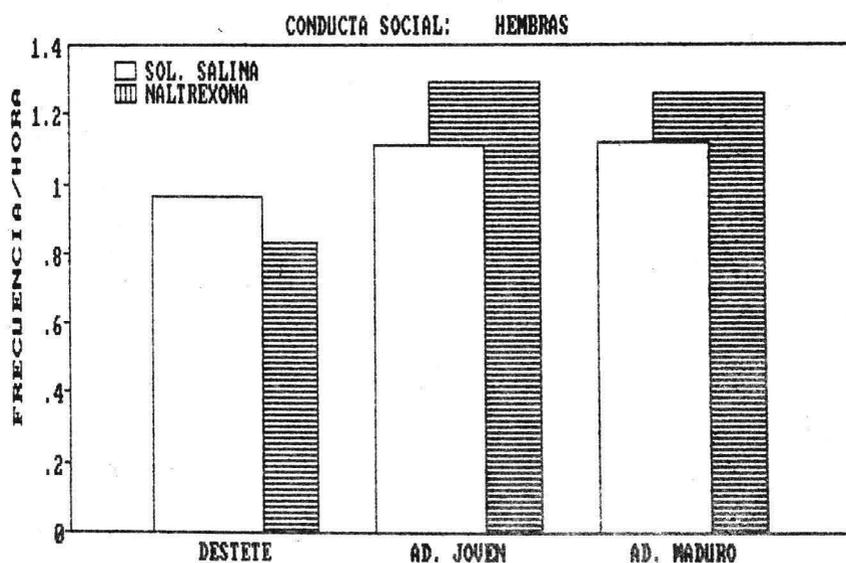


Gráfico 12

Las conductas sociales, en las hembras tratadas, presentaron un aumento significativo ($p < .05$) durante los periodos de adulto joven (8-9 semanas) y de adulto maduro (11-12 semanas).

RESULTADOS PREPARACION VAS DEFERENS

Después de la aplicación del análisis de regresión lineal, se observó que el porcentaje de inhibición de las contracciones inducidas eléctricamente en el vas deferens, aumentó con dosis crecientes de morfina, en ambos grupos (tabla 6).

El análisis de la curva dosis-respuesta a morfina señala un desplazamiento hacia la izquierda en el grupo tratado, observándose que ambas curvas son paralelas. La relación entre DE salina (2×10^{-5}) y la DE naltrexona (7.5×10^{-6}) es igual a 2.66 lo que indica que el grupo tratado fue de 2 a 3 veces más sensible a la respuesta de morfina que el grupo control (gráfica 13)

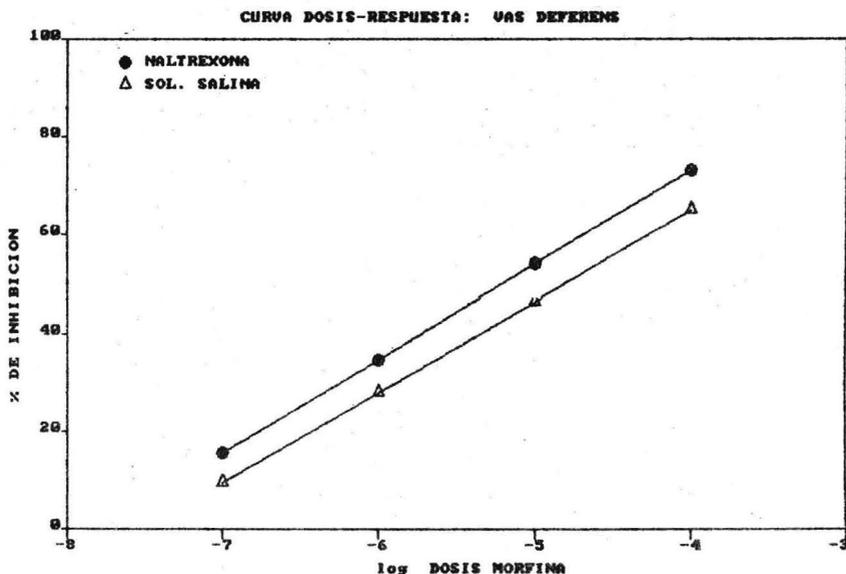
PORCENTAJE DE INHIBICION

DOSIS MORFINA	NALTREXONA	SALINA
1×10^{-7}	15.64 ± 4.96 *	9.4 ± 1.89
1×10^{-6}	34.85 ± 8.18	27.96 ± 7.55
1×10^{-5}	54.06 ± 5.29	46.52 ± 0.97
1×10^{-4}	73.27 ± 6.4	65.08 ± 11.73

*media ± error estándar

Tabla 6

El porcentaje de inhibición de las contracciones aumentó en ambos grupos, con dosis crecientes de morfina. Dicho porcentaje es mayor en el grupo de animales tratados.



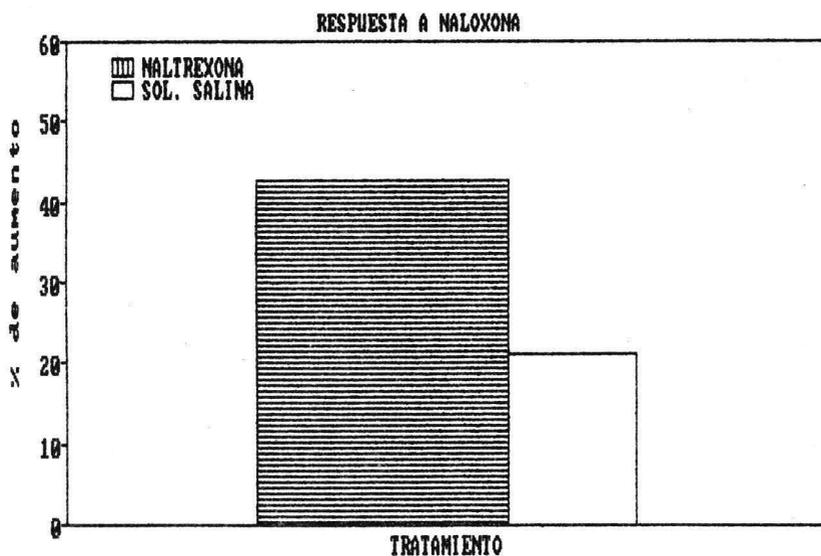
Gráfica 13

Curva dosis-respuesta a morfina donde se grafica el porcentaje de inhibición de las contracciones de vas deferens inducidas eléctricamente al administrar dosis crecientes de morfina. La potencia relativa fué 2.66.

Por otro lado, la administración, en forma aguda, de una dosis alta de naloxona (3.8×10^{-6} M) produjo una contracción en el vas deferens estimulado eléctricamente. Al comparar el porcentaje de aumento se encontró que dicha contracción fué significativamente mayor ($p < .025$) en el grupo tratado que en el grupo control.

PORCENTAJE DE AUMENTO

DOSIS DE NALOXONA	NALTREXONA	SALINA
3.8×10^{-6}	21.34 ± 3.93	42.86 ± 7.52



Gráfica 14

Se presentan los porcentajes promedios de aumento en las contracciones inducidas por naloxona (3.8×10^{-6} M) en el vas deferens estimulado electricamente. Se observa una diferencia significativa ($p < 0.025$) según la prueba T de Student para dos vías.

DISCUSION

La teratología conductual surge como un campo nuevo e independiente de la teratología a partir de las observaciones de que la exposición prenatal a diversos agentes, podía producir alteraciones conductuales en ausencia de alteraciones estructurales gruesas (Yanai, 1984).

Se ha observado que el desarrollo ontogenético de las funciones autónomas, sensoriales, neuromusculares y emocionales, entre otras, así como la maduración de la infraestructura bioquímica del cerebro sigue un patrón tan bien programado como los procesos de proliferación, diferenciación y migración celular (Zhinden, 1981). Durante el desarrollo, el sistema nervioso central puede verse afectado fácilmente hasta el punto de que se detectan alteraciones funcionales con la exposición a niveles del tóxico que no producen toxicidad aparente en la madre y el neonato. El período durante el cual se desarrolla el sistema nervioso central es muy extenso, observándose que su vulnerabilidad a los agentes tóxicos, no solo se presenta durante las etapas iniciales de gestación como se consideraba anteriormente, sino también en las etapas finales y postnatales (Bignami, 1976).

Los sistemas peptidérgicos son los sistemas de neurotransmisores que menos se han estudiado, sin embargo los opioides, como herramientas para alterar los sistemas endorfinérgicos-encefalinérgicos comienzan a ser estudiados de manera sistemática.

La presencia de endorfinas en la leche materna y en la placenta, descrita por varios autores (Nakai et al., 1978; Hazum et al., 1981), sugiere la participación de los sistemas opiopeptidérgicos en los procesos ontogenéticos. Sin embargo,

existe evidencia de que los sistemas opioides pueden estar inactivos en condiciones normales (Goldstein et al., 1976) y que la administración de antagonistas no produzca ningún efecto, al menos en algunos parámetros fisiológicos.

Por otro lado se ha reportado que una amplia variedad de estímulos internos y externos, los cuales actúan como estresores, pueden activar a los sistemas opioides sugiriendo que estos, juegan un papel importante en los mecanismos adaptativos del organismo (Gintzler, 1982).

El embarazo es un estado que requiere adaptación al estrés, observándose que durante las últimas etapas de la gestación y, en especial durante la labor de parto se presenta un aumento considerable en las concentraciones plasmáticas de opioides (Akil et al., 1979; Csontos et al., 1979 citados por Gintzler, 1982).

La implantación de pellets de naltrexona en ratas preñadas y no preñadas tiene efectos diferenciales sobre los umbrales del dolor. Se produce una modificación de ellos solo en el primero de los casos. Lo anterior sugiere que durante la gestación se produce una activación de los sistemas opioides que están aparentemente silenciosos en las ratas no preñadas (Gintzler, 1982).

Además, se ha reportado que el aislamiento social también es un estímulo, en este caso externo, el cual activa a los sistemas opioides. Dichos efectos han sido interpretados en términos de proliferación de receptores o de supersensibilidad causada por la ausencia de fuentes de estimulación social. La observación de que las ratas aisladas consumen más morfina que las ratas agrupadas, apoya la hipótesis de que el ambiente social mantiene un nivel deseable de actividad opioide (De Feudis et al., 1978; Alexander et al., 1978 citados por Oliverio et al., 1984).

PERIODO DE LACTANCIA

Los resultados de las observaciones realizadas durante el periodo de lactancia (0-21 días) señalan un aumento significativo, a los 21 días, en el peso corporal de los ratones machos y hembras tratados prenatalmente con naltrexona.

Aunque no se determinó cual de los tejidos presentaba hipertrofia y por lo tanto era el responsable del aumento en el peso corporal, se plantea que la dosis del antagonista y el consecuente bloqueo del receptor opioide determinaron la aparición de este efecto.

Se ha reportado que las dosis diarias de antagonistas menores de 10 mg/Kg, las cuales bloquean al receptor opioide por menos de 12 h, tienen un efecto inhibitorio sobre el desarrollo corporal y cerebral; mientras que la dosis de 20 mg/Kg en adelante, las cuales bloquean al receptor opioide por 24 h, tienen un efecto estimulante sobre el desarrollo (Zagon y McLaughlin, 1984b). En este sentido, la farmacocinética de la naltrexona adquiere importancia ya que se ha establecido que es un antagonista puro de mayor eficacia y acción más prolongada que la naloxona (Blumberg y Dayton, 1974).

Se ha observado así un aumento del 18% en el peso corporal de ratas expuestas perinatalmente a 50 mg/Kg de naltrexona y una disminución con la dosis de 1 mg/Kg (Zagon y McLaughlin, 1985b). En el mismo sentido, Vorhees (1981) reporta que la administración prenatal de naloxona, a una dosis alta, produce un aumento en el desarrollo somático postnatal.

Los mecanismos através de los cuales se producen estos efectos aún no están claramente determinados. Zagon y McLaughlin (1984a) plantean que el receptor opioide está unido a procesos esenciales para la proliferación, migración y diferenciación celular. Las endorfinas y algunos opioides como la morfina y

metadona, inhiben el crecimiento a través de interacciones con los receptores opioides localizados en las células en desarrollo (Zagon y McLaughlin 1977b).

En la presente investigación se empleó, una dosis de naltrexona de 10 mg/Kg dos veces al día la cual se ha reportado que bloquea la interacción mencionada anteriormente, permitiendo que el crecimiento no se afecte y por lo tanto, se produzcan animales más grandes (Zagon y McLaughlin 1985a).

En relación a las conductas evaluadas durante este periodo: auto-aseo, aseo social, erguido y husmeo, no se observaron diferencias significativas entre los grupos. Este resultado coincide con lo encontrado por Zagon y McLaughlin (1985a) en algunas de las variables evaluadas en una prueba de campo abierto después de la exposición perinatal a naltrexona.

ACTIVIDAD LOCOMOTORA

El aumento que se observó en la actividad locomotora durante el periodo de lactancia (2-3 semanas) no fue significativo. Sin embargo, constituye un resultado importante y necesario de subrayar dado que los cambios que se presentaron durante el desarrollo posterior, y los cuales fueron significativos, también señalan un aumento de la actividad locomotora en los animales tratados prenatalmente con naltrexona.

Además, constituye una evidencia que apoya la presencia de un efecto claro y consistente ya que la metodología empleada para el registro de la actividad locomotora durante la lactancia fue diferente de la empleada durante los otros periodos de desarrollo. Zagon y McLaughlin (1985a) reportan un aumento del 32% en la actividad locomotora (caja de actividad) a los 21 días en la rata expuesta perinatalmente a naltrexona (50 mg/Kg).

Durante el desarrollo posterior, los resultados de la actividad locomotora total, registrada através de una caja de actividad con fotoceldas, demuestran un aumento significativo durante los periodos del destete (5-6 semanas) y adulto maduro (11-12 semanas). Este aumento es más importante durante el periodo de adulto maduro, ya que el aumento total se debe a un aumento durante casi toda la hora del registro (52 min); mientras que el aumento registrado durante el periodo del destete sólo se debe a un aumento durante los primeros 32 min.

Esta diferencia en el efecto, como consecuencia del desarrollo, es congruente con la observación de que con la edad, la disminución normal de las capacidades funcionales de un sujeto puede verse aumentada con la exposición, durante el desarrollo, a un posible teratógeno conductual (Buelke-Sam y Kimmel, 1979).

En 1981, Medina y col encontraron que la administración de naltrexona (10 mg/Kg c/12 h) durante los periodos de gestación y lactancia producía un aumento en la actividad locomotora (caja de actividad) a las 3 y 7 semanas de vida en el ratón. Aunque los periodos en que se observaron estos efectos no coinciden con los periodos de observación del presente estudio, estos apoyan la presencia de un aumento en la actividad locomotora.

Durante el periodo de adulto joven los niveles de actividad locomotora en los animales tratados prenatalmente con naltrexona fueron similares a los del grupo control. En el grupo control se registró el pico de mayor actividad durante este periodo, mientras que los niveles de actividad durante el primero y último periodo de desarrollo fueron similares y significativamente menores. Durante este periodo se ha reportado un aumento importante en las conductas de juego (Panksepp, 1979b) y en la conducta sexual (Fox, 1965), lo que plantea que es un periodo donde las capacidades funcionales del sujeto están más desarrolladas

Lo anterior señala que la ausencia de un aumento en la actividad locomotora en los ratones tratados prenatalmente con naltrexona pueda deberse a que la actividad está aumentada de manera normal durante este periodo sin que se pueda observar un aumento mayor.

Se ha planteado que los efectos que ejercen los opioides sobre la actividad locomotora están mediados por la interacción de estos sistemas con los sistemas catecolaminérgicos, especialmente en las regiones del cuerpo estriado (Reggiani et al., 1980). Específicamente, se ha demostrado la presencia de altas concentraciones de encefalinas estriatales cuyo desarrollo postnatal se correlaciona con el desarrollo de la dopamina (Patey et al., 1980).

El mecanismo que subyace a esta interacción encefalinas-dopamina en el control de la actividad locomotora ha sido estudiado por Kelley y col (1980) quienes plantean un modelo donde la activación de los receptores opioides ejerce una inhibición presináptica de una interneurona, posiblemente gabaérgica, produciendo liberación de dopamina y por consiguiente, un aumento en la actividad locomotora.

En este sentido, cobran especial interés para la presente investigación los estudios acerca del desarrollo ontogenético de los endopioides. En 1979, Bayón y col detectan la presencia de niveles de endorfinas a partir de los 13 días de vida prenatal en la rata. Los niveles de encefalinas fueron detectados a los 16 días y en menores cantidades que los de endorfinas. El desarrollo prenatal posterior (16-20 días) demostró un aumento mayor en el contenido de encefalinas, comparable a la aumento de endorfinas entre los 13 y 16 días. Durante el desarrollo postnatal (6-25 días), los niveles de ambos endopioides alcanzan su distribución adulta.

Tsang y NG (1980), encontraron que la administración de naloxona (5 mg/Kg c/8 h) una semana antes del apareamiento y durante todo el periodo de gestación se asocia con una modificación en los sitios de unión para la met-enkefalina. Además, Wuster y col (1980) observaron que el bloqueo crónico de los receptores opioides con naloxona produce un aumento selectivo en el contenido de met-enkefalina estriatal.

Las evidencias anteriormente mencionadas donde se plantea la participación de las enkefalinas en el control de la actividad locomotora, su interacción con dopamina, su aparición desde la etapa prenatal y la modificación de sus sitios de unión y contenido estriatal con la administración de antagonistas prenatal o crónicamente, sugieren que los efectos sobre la actividad locomotora, observados en la presente investigación, pueden estar asociados con cambios en los sistemas encefalinérgicos.

De hecho, la activación de los sistemas opioides por el tratamiento con naltrexona, fenómeno conocido con el nombre de anaregulación (Campos-Sepulveda et al., 1984) parece ser el mecanismo que subyace a los efectos encontrados ya que mediante la preparación de vas deferens se detectó un aumento en la sensibilidad de los receptores opioides.

RESPUESTA ANALGESICA

La respuesta analgésica, medida através de la técnica del plato caliente, en los animales tratados prenatalmente con naltrexona presentó un solo cambio con respecto al grupo control y el cual se tradujo en un aumento significativo en las latencias del lamido de patas durante el periodo de adulto joven. Las diferencias observadas en los periodos del destete y adulto maduro no fueron significativas. Asimismo, las latencias del salto no presentaron diferencias significativas entre los grupos en cada uno de los periodos del desarrollo.

Los estudios que han evaluado la respuesta analgésica después de la administración perinatal o prenatal de antagonistas de opioides, mediante la técnica del plato caliente, observan cambios en la sensibilidad al efecto analgésico de la morfina, mas que cambios en la respuesta analgésica por si sola.

Paul y col (1978), reportan que la administración de naltrexona durante el periodo de lactancia no modifica las latencias en el plato caliente a los 21 días en la rata. Sin embargo, observan un aumento en la respuesta analgésica ante la administración de morfina a los 29 días y no a los 42 días. En forma similar, Hetta y Terenius (1980) tampoco reportan cambios en la respuesta analgésica a los 30 días, en la rata expuesta prenatalmente a naltrexona, aunque a los 40 días estos animales presentan mayor sensibilidad al efecto analgésico de la morfina.

En la presente investigación no se midió la respuesta analgésica después de la administración de morfina, pero se observó una modificación en las latencias del lamido de patas en el periodo de adulto joven. Este resultado no coincide con lo reportado por los autores citados anteriormente y tampoco coincide con la observación de que los opioides actúan sobre el componente de percepción del dolor (salto) y no sobre el componente de sensación (lamido de patas) (Grevert y Goldstein, 1977; Velasco et al., 1987).

En este sentido, vale la pena señalar que el sistema de modulación del dolor involucra la participación de otros neurotransmisores. Se ha reportado que la administración de muscimol, un agonista gabaérgico, produce analgesia en el plato caliente y en la prueba de estiramiento (Hill et al., 1981). También se ha observado que la administración de serotonina, noradrenalina y neurotensina produce analgesia (Jensen y Yaksh, 1986; Basbaum y Fields, 1984).

Dado que existe evidencia de que el efecto observado en las latencias del lamido de patas en este experimento no se puede explicar por la participación de los sistemas opiopeptidérgicos, se plantea que dicho aumento probablemente esté mediado por la presencia de otro sistema neurotransmisor con actividad analgésica y el cual presente mayor actividad en el período de adulto joven (8-9 semanas). Se ha reportado que el sistema gabaérgico alcanza la maduración después del primer mes de vida en el ratón (Unsworth et al., 1980).

En relación al desarrollo ontogenético de la respuesta analgésica no se presentaron diferencias grandes entre los grupos. Con respecto al lamido de patas, se observó un aumento en las latencias; mientras que en la respuesta de salto se observó una disminución. Este resultado coincide con el reporte de Jaffe y Martin (1986) de que con la edad, la capacidad para sentir el dolor aumenta y la capacidad para percibir el dolor disminuye.

Sin embargo, es necesario hacer notar que el desarrollo ontogenético de la respuesta de salto en el grupo de animales tratados, fue diferente del grupo control. Específicamente esto se observó en relación a la disminución que se presentó durante el período de adulto maduro. En el grupo control se observó una disminución significativa durante este período con respecto al período anterior; mientras que en el grupo tratado la disminución es leve y no significativa. Este resultado plantea que la disminución normal en la capacidad para percibir el dolor está alterada por el tratamiento prenatal con naltrexona. Como ya se dijo, los efectos sobre el componente de percepción del dolor están mediados por los sistemas opiopeptidérgicos, lo que sugiere que la diferencia en el desarrollo ontogenético de la respuesta de salto podría estar asociada con los cambios producidos por el tratamiento prenatal.

Es posible que estos cambios se deban a una modificación en el número y/o afinidad de los receptores opioides, especialmente en los receptores μ , los cuales se han relacionado con la analgesia (Martin, 1984).

La presencia de los receptores opioides ha sido observada y demostrada desde los 14 días de vida prenatal en la rata. Su desarrollo posterior indica un rápido aumento entre la etapa media fetal y las tres semanas de vida postnatal, con un aumento más gradual hasta las 20 semanas. Mediante el uso de curvas de saturación, se encontró que el aumento se debía a un aumento en el número de receptores, mientras que la afinidad permanecía igual (Clendenin et al., 1976).

Coyle y Pert (1976) también reportan la presencia del receptor opioide a los 15 días de gestación en la rata, observándose el mayor incremento durante la última etapa de la gestación: la densidad aumenta 25 veces y el número de receptores aumenta 200 veces. Sin embargo, observan que la gran mayoría de los receptores se forman después del nacimiento con un aumento que va desde 0.7 hasta 11.4 pmol/cerebro en la unión estereoespecífica de naloxona marcada entre el nacimiento y la edad adulta. El desarrollo regional demuestra que, durante el nacimiento, la mayor densidad de receptores opioides se encuentran a nivel de las regiones caudales del cerebro (bulbo-puente e hipotálamo). En las regiones rostrales del cerebro y en la corteza cerebral se observan densidades menores.

Las evidencias mencionadas, señalan la posibilidad de que el tratamiento prenatal con naltrexona pudo haber actuado sobre el desarrollo de los receptores opioides. De hecho se demostró, mediante la preparación de vas deferens, una modificación en la sensibilidad de los receptores opioides lo que sugiere que el desarrollo ontogenético de la respuesta de salto puede estar asociada con un efecto de mayor sensibilidad a nivel del receptor ya que las latencias durante el periodo de adulto maduro se conservaron altas (mayor analgesia).

CONDUCTA SOCIAL

MACHOS

Los efectos de los opioides sobre algunos de los aspectos de la conducta social, así como la evidencia de que la administración de naloxona produce un aumento en las vocalizaciones inducidas por la separación de la madre en neonatos de diferentes especies, apoyan la participación de los sistemas opiopeptidérgicos en la organización y desarrollo de la conducta social (Panksepp, 1978a, 1978b, 1979a).

El análisis del desarrollo de la conducta social en los ratones machos tratados prenatalmente con naltrexona, demostró que los cambios observados se presentaron especialmente durante el período de adulto joven y adulto maduro y que estos mostraron una disminución de algunas conductas. Disminuyeron significativamente el escudriñar, la alimentación, el auto-aseo y el aislamiento durante el período de adulto joven y, durante el período de adulto maduro, disminuyeron el auto-aseo, el aislamiento, las conductas sociales y las conductas agresivas.

Lo que se observó fue que los ratones machos presentaron una alteración que se hizo evidente tarde en el desarrollo y la cual abarca diversas conductas pertenecientes a la mayoría de las categorías evaluadas. Lo anterior sugiere que el efecto de la administración prenatal de naltrexona, sobre la conducta social es un efecto amplio que da como resultado un animal que requiere de pocas fuentes de estimulación externa.

Se plantea que la administración prenatal de naltrexona produce supersensibilidad a nivel del receptor, condiciones bajo las cuales, se estaría induciendo un fenómeno de dependencia física a los opioides endógenos. Se ha evidenciado que la estimulación eléctrica de un segmento intestinal aislado, a altas frecuencias, produce liberación de opioides hasta producir

dependencia física, expresada por una contractura de gran intensidad y duración ante la administración de naloxona (Lujan et al., 1980).

Se ha planteado una correlación muy estrecha entre la dependencia a opioides y la dependencia social, la cual sugiere que el bienestar que subyace al contacto social puede estar mediado parcialmente por la actividad de los sistemas opioides endógenos (Panksepp et al., 1978a). Fisiológicamente, el síndrome de carencia opiáceo y social se manifiestan através de sistemas de respuesta comunes: lagrimeo, irritabilidad, depresión, insomnio y anorexia. El grado de coincidencia de los síntomas sugiere que ambos tienen un sustrato neurofisiológico común (Panksepp et al., 1980).

Se plantea entonces, que la disminución en las diversas conductas supone que la liberación de los peptidos endógenos interfiere con la búsqueda de fuentes de placer dado que por si sola proporciona el placer necesario.

HEMBRAS

El desarrollo de las conductas sociales en los ratones hembras tratadas presenta cambios especialmente durante el periodo del destete, y en su gran mayoría, expresados através de una disminución de la conducta. Se observa un aumento en las conductas propiamente sociales durante los dos últimos periodos de desarrollo. Es posible que las diferencias con respecto a los ratones machos se deban a cambios hormonales ya que se ha evidenciado que los opioides afectan la regulación de algunas hormonas (Amir et al., 1980).

PREPARACION VAS DEFERENS

Finalmente, se realizó una prueba para establecer con mayor claridad la existencia de cambios en la sensibilidad a los receptores opioides, utilizando el modelo de vas deferens. Esta preparación ha sido empleada por varios autores quienes reportan que la administración de morfina disminuye las contracciones del vas deferens, inducidas por la estimulación de campo, al inhibir la liberación de noradrenalina (Henderson y Hughes, 1976). El vas deferens de ratón tiene grandes cantidades de receptores delta, aunque también se detecta la presencia de receptores mu (Lord et al., 1977).

Los resultados de la presente investigación demuestran un desplazamiento de la curva dosis-respuesta hacia la izquierda y una mayor recuperación con naloxona, lo que claramente señala la existencia de cambios en la sensibilidad de los receptores. La evidencia de que el vas deferens de ratón posee mayor cantidad de receptores delta que de receptores mu (Lord et al., 1977) sugiere que el cambio a nivel del receptor pudo haber sido mayor al observado ya que no se midió la sensibilidad de otro tipo de receptores. Se plantea entonces, que los cambios en la sensibilidad de los receptores están asociados con cambios conductuales.

DISCUSION GENERAL

Como puede observarse la aparición y duración de los efectos de la administración prenatal de naltrexona sobre las conductas evaluadas no fue constante através de los distintos periodos de desarrollo.

Así, los efectos sobre la actividad locomotora se hicieron evidentes durante los periodos del destete y adulto maduro,

mientras que la respuesta analgésica sólo se ve modificada durante el periodo de adulto joven. Sin embargo, la ausencia de un aumento en la actividad locomotora durante el periodo de adulto joven parece deberse a que la actividad está aumentada de manera normal. Se plantea, también que la presencia de un cambio en las latencias del lamido de patas puede deberse a la participación de otro neurotransmisor.

Podría ser probable que ambos efectos tengan un mecanismo en común donde lo que produce el aumento normal de la actividad locomotora esté ocasionando un aumento en las latencias del lamido de patas. Sin embargo, la existencia de diferentes poblaciones de receptores opioides plantea la probabilidad de que la actividad locomotora y la respuesta analgésica estén asociadas con receptores diferentes, delta y mu respectivamente (Martin, 1984).

Por otro lado, se observa una diferencia en los efectos sobre la conducta social entre machos y hembras. En las hembras, los cambios se presentan durante el periodo del destete y se refieren a cambios en las conductas clasificadas como no sociales. En los machos, los cambios se presentan durante los periodos de adulto joven y adulto maduro y abarcan conductas que pertenecen a la mayoría de las categorías evaluadas.

Lo anterior sugiere la presencia de un componente hormonal que esté mediando los diferentes efectos entre machos y hembras. La participación de los opioides en el eje hipotálamo-hipofisiario ha sido estudiada extensamente (Amir et al., 1980).

De la presente investigación se desprende que la conducta, entendida como la capacidad dinámica e integrativa de un organismo, constituye un indicador sensible de las alteraciones producidas durante el desarrollo (Buelke-Sam y Kimmel, 1979). Se observó que las alteraciones conductuales se presentaron como desviaciones cuantitativas de la normalidad lo que es congruente

con el planteamiento de Yanai (1984) de que la teratogenicidad conductual no necesariamente se expresa a través de la ausencia de una conducta determinada.

Aunque es difícil establecer relaciones causales entre eventos conductuales y neurales, el empleo de una sustancia con efectos específicos como la naltrexona (bloqueador del receptor opioide), disminuye la posibilidad de que las alteraciones producidas se deban a otro efecto.

Sin embargo, algunos autores han planteado la necesidad de diferenciar entre las alteraciones conductuales inducidas por el estrés, mediadas posiblemente através de desórdenes hormonales, nutricionales o circulatorios en la madre preñada, del daño directo sobre el producto. Es posible que se presenten cambios en la conducta, los cuales no son consecuencia de un efecto teratogéno en el cerebro del producto, sino debidos a las intervenciones estresantes a las que fue sometida la madre durante la gestación (Zbinden, 1981).

En este estudio dicha posibilidad parece no ser probable ya que el grupo control estaba constituido por animales cuyas madres fueron sometidas a las mismas condiciones estresantes que las madres tratadas con naltrexona. Además, los cambios en la sensibilidad de los receptores, observados através de la preparación de vas deferens, también descartan la posibilidad de que los efectos sean consecuencia del estrés.

Puesto que son muy pocos los estudios que han evaluado los efectos de la administración prenatal de antagonistas de opioides sobre el desarrollo de la actividad locomotora y la respuesta analgésica, y ninguno sobre el desarrollo de la conducta social, se hacen necesarias investigaciones donde se estudien no solo los efectos del tratamiento prenatal, sino también los efectos de estas sustancias administradas desde antes del apareamiento hasta el periodo de lactancia, sobre las conductas mencionadas.

APENDICE I

CONDUCTAS

CONDUCTAS NO SOCIALES

- 1-Deambulaci3n: Saltar, caminar, cavar.
- 2-Exploraci3n: Deambulaci3n con orientaci3n hacia el ambiente fisico, particularmente al piso. Puede involucrar el erguido que consiste en posici3n vertical con movimientos exploratorios de la cabeza orientada hacia el entorno. Las patas delanteras pueden descansar en la pared de la jaula.
- 3-Escudriñar: Posici3n horizontal con movimientos exploratorios de la cabeza orientada hacia el entorno.
- 4-Auto-aseo: Lavado de cara, usando patas delanteras lamidas y/o lamido de la piel.
- 5-Descanso: Con ojos abiertos puede acompañarse de husmeo, con ojos cerrados no hay husmeo y puede estar durmiendo.
- 6-Alimentaci3n: Comer y/o beber.

CONDUCTAS SOCIALES

- 1-Atender: Orientaci3n visual de la cabeza y el cuerpo hacia el oponente. Puede involucrar la postura de atender estirado que consiste en el estiramiento de la cabeza y de la parte anterior del cuerpo hacia el oponente.
- 2-Aproximaci3n: Movimiento directo hacia el oponente caminando.
- 3-Seguir: Movimiento directo hacia un oponente que se est3 alejando.
- 4-Arrastrarse debajo: Empujar la cabeza y la parte anterior del cuerpo debajo del cuerpo del oponente.
- 5-Husmeo Corporal: Husmeo de cualquier parte del cuerpo del oponente a excepci3n de la cabeza y de la regi3n genital.
- 6-Husmeo Genital: Husmeo de la regi3n ano-genital del oponente.
- 7-Husmeo de la Cabeza: Husmeo de la cabeza del oponente.

8-Erguir-lomo: Pararse en dos patas a un lado del oponente con las patas anteriores descansando en el lomo del oponente. La cabeza orientada hacia el oponente o hacia el medio ambiente.

9-Aseo-social: Tocar con la boca y lamer la piel del oponente en cualquier parte del cuerpo incluyendo la cabeza.

CONDUCTAS AFILIATIVAS - DISPERSIVAS

1-Aislamiento: El animal permanece aislado

2-Hacinamiento: El animal se encuentra hacinado

CONDUCTAS AGRESIVAS

1-Embestida: Empujón rápido de la cabeza y parte anterior del cuerpo hacia el oponente. La cabeza no establece contacto con el cuerpo del oponente.

2-Latiguelo: Azotamiento rápido de la cola de lado a lado. Produce ruido cuando toca objetos sólidos.

3-Acicalamiento Agresivo: Tirar con fuerza de la piel del oponente, generalmente del lomo.

4-Perseguir: Persecución rápida del oponente que huye.

5-Ofensiva: Involucra dos posiciones: a) Ofensiva vertical: posición vertical con la espalda doblada y con el cuerpo orientado e inclinado hacia el oponente. b) Ofensiva lateral: el cuerpo presentado lateralmente al oponente y con rotación fuera de él. En ambas posiciones el animal tiene los párpados medio abiertos y las orejas aplanadas.

6-Morder Cabeza

7-Morder Cola

8-Morder Cuerpo

En las tres conductas se observa un salto rápido, o movimiento rápido de la cabeza y el cuerpo anterior hacia el oponente finalizando en un contacto de la boca con la cabeza, cola o con el cuerpo.

9-Felea: Los animales ruedan mordiendo el piso, pateando y luchando con los cuerpos unidos fuertemente. El animal mordido no responde. Generalmente acaban separados y en ocasiones vuelven a empezar la pelea.

CONDUCTAS DEFENSIVAS

- 1-Postura sumisa: Puede involucrar dos posturas diferente: a) Postura sumisa vertical: postura vertical orientada hacia el oponente. Ojos abiertos y orejas extendidas. La cabeza orientada hacia adelante con tendencia a mirar hacia arriba, especialmente cuando el oponente está cerca. b) Postura sumisa lateral: orientación lateral hacia el oponente. Ojos abiertos y orejas extendidas. Rotación del cuerpo hacia afuera del oponente con la pata delantera más cercana, levantada. La cabeza orientada hacia afuera del oponente.
- 2-Huir: Correr en forma rápida y directa hacia afuera del oponente.
- 3-Patear: Defensas del oponente usando miembros anteriores y posteriores.
- 4-Saltar: Salto repentino y violento levantándose del piso hacia adelante y hacia arriba.
- 5-Activarse: Correr brincando en forma rápida y aparentemente sin dirección.
- 6-Retraerse: Movimiento repentino de la cabeza y parte anterior del cuerpo hacia afuera del oponente.

REFERENCIAS

1. ACHESON, J.R. (1973): Citado en Comprehensive Textbook of Psychiatry, ed. by Freedman, A. M. and Kaplan, H. S. p. 986, The Williams and Wilkins co., Baltimore, 1967.
2. AMIR, S., BROWN, Z.V. and AMIT, Z. (1980): The role of endorphins in stress: Evidence and speculation. *Neurosci Biobehav Rev*, 4:77-86.
3. ARNSTEN, A. T. and SEGAL, D.E. (1979): Naloxone alters locomotion and interaction with environmental stimuli. *Life Sci*, 25:1035-1042.
4. AUGUY-VALETTE, A., CROS, J., GOUARDERES, C., GOUTR, R. and PONTONNIER, G. (1978): Morphine analgesia and cerebral opiate receptors: A developmental study. *Br J Pharmacol*, 63:303-308.
5. BASBAUM, A. I. and FIELDS, H. L. (1984): Endogenous pain control: Brainstem spinal pathways and endorphin circuitry. *Ann Rev Neurosci*, 7:309-338.
6. BAYON, A., SHOEMAKER, W. J., BLOOM, F. E., MAUSS, A. and GUILLEMIN, R. (1979): Perinatal development of endorphin and enkephalin-containing systems in the rat brain. *Brain Res*, 179:93-101.
7. BIGNAMI, G. (1976): Behavioral pharmacology and toxicology. *Ann Rev Pharmacol*, 16:329-366.
8. BLOOM, F. E. (1983): The endorphins: A growing family of pharmacologically pertinent peptides. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 23:151-170.
9. BLUMBERG, H. and DAYTON, H.B. (1974): Naloxone, naltrexone and related noroxymorphones. In: *Narcotic Antagonists*, Ed Braude, M.C., Harris, L.S., May, E.L., Smith, J.P. and Villareal, J.E., pp 33-43. *Advances in Biochemical Psychopharmacology*, Vol 8. Raven Press, New York.
10. BRAIN, P. F., BRAIN, S. and BENTON, D. (1985): Ethological analysis of the effects of naloxone and the opiate antagonist ICI 154, 129 on social interactions in male house mice. *Behav Proc* 10:341-354.
11. BUCHENAUER, D., TURNBOW, W. and PETERS, M. A. (1974): Effect of chronic methadone administration on pregnant rats and their offspring. *J Pharmacolo Exp Ther*, 189:66-71
12. BUELKE-SAM, J. and KIMMEL, C.A. (1979): Development and standarization of screening methods for behavioral teratology. *Teratology*, 20:17-30.
13. BUNNEY, W. E., Jr. (1979): Basic and clinical studies of endorphins. *Ann Intern Med*, 91:239-250.

14. CABANAC, M. (1971): Physiological role of pleasure. *Science*, 173:1103-1107.
15. CAMPOS-SEPULVEDA, E., IZAZOLA-CONDE, C., LOPEZ y MARTINEZ, E. Y LUJAN, M. (1984): Principios de importancia en el estudio de la farmacología. Curso Premédico. Ed. por la Secretaría de Educación Médica y la Secretaría de Ciencias Básicas (Fac. de Medicina, U.N.A.M.) pp. 175-230.
16. CAZA, P.A. and SPEAR, L.P. (1980): Ontogenesis of morphine-induced behavior in the rat. *Pharmacol Biochem Behav*, 13:45-50.
17. CLENDENIN, N., PERTRAIT, M. and SIMON, E. J. (1976): Ontological development of opiate receptor in rodent brain. In: *Opiates and Endogenous Opiates Peptides*. Kosterlitz Ed., North-Holland Biomedical Press, Amsterdam, pp. 261-266.
18. COX, B. M., OPHEIM, K. E., TESCHEMACHER, H. and GOLDSTEIN, A. (1975): A peptidelike substance from the pituitary that acts like morphine. 2. Purification and properties. *Life Sci*, 16:1777-1782.
19. COYLE, J.T. and PERT, C. B. (1976): Ontogenetic development of (3H) Naloxone binding in the rat brain. *Neuropharmacol*, 15:555-560.
20. CUELLO, A. C. (1979): Enkephalin and substance P containing neurons in the trigeminal and extrapyramidal systems. *Adv Biochem Physiofarmacol*, 18:111-124.
21. DAVIS, W. M. and LIN, C. H. (1972): Prenatal morphine effects on survival and behavior of the rat offspring. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 3:205-214.
22. DINGES, D. F., DAVIS, M. M. and GLASS, P. (1980): Fetal exposure to narcotics: neonatal sleep as a measure of nervous system disturbance. *Science*, 209:619621.
23. EDDY, N. B. and LEIMBACH, D. (1953): "Synthetic analgesics. II Dithienylbutenyl and Dithienylbutylamine". *J Pharmacol Exp Ther*, 107:385-393.
24. FABRE-NYS, C., MELLER, R.C. and KEVERNE, E.B. (1982): Opiate antagonists stimulate affiliative behavior in monkeys. *Pharmacol Biochem Behav*, 16:653-659.
25. FANSELOW, M. S., SIGMUNDI, R. A. and BOLLES, R. C. (1980): Naloxone pretreatment enhances shock-elicited aggression. *Physiol Psychol*, 8:369-371.
26. FILIBECK, U., CASTELLANO, C. and OLIVERIO, A. (1982): Development of morphine-induced changes of activity in the mouse. *Dev Brain Res*, 2:602-605.
27. FOG, R. (1970): Behavioral effects in rats of morphine and amphetamine and of a combination of the two drugs. *Psychopharmacol*, 16:305-312

28. FORD, D. and RHINES, R. (1979): Prenatal exposure to methadone HCL in relationship to body and brain growth in the rat. *Acta Neurol Scand*, 59:248-262.
29. Fox, W.M. (1964): Reflex-ontogeny and behavioral development of the mouse. *Anim Behav*, 13:234-241.
30. FREDERICKSON, R.C.A. (1977): Enkephalin pentapeptides. A review of current evidence for a physiological role in vertebrate neurotransmission. *Life Sci*, 21:23-42.
31. GINTZLER, A.R. (1982): Activation of opioid-containing system during gestation. *Ann N.Y. Ac of Sciences*, 302-306.
32. GOLDSTEIN, A., PRYOR, G.T., OTIS, L.S. and LARSEN, F. (1976): On the role of endogenous opioid peptides: Failure of naloxone to influence shock escape threshold in the rat. *Life Sci*, 18:599-604.
33. GREVERT, P. AND GOLDSTEIN, A. (1977): Some effects of naloxone on behavior in the mouse. *Psychopharmacol*, 53:111-113.
34. HARRY, G. J. and ROSECRANS, J. A. (1979): Behavioral effects of perinatal naltrexone exposure: A preliminary investigation. *Pharmacol Biochem Behav*, 11 (Suppl.),19-22.
35. HAZUM, E., SABATKA, J.J., CHANG, K.J., BRENT, D.A., FINDLAY, J.W.A. and CUATRECASAS, P. (1981) *Sci*, 213:1010-1012.
36. HENDERSON, G. and HUGHES, J. (1976): The effects of morphine on the release of noradrenaline from the mouse vas deferens. *Br J Pharmacol*, 57:551-557.
37. HERMAN, B. H. and PANKSEPP, J. (1978): Effects of morphine and naloxone on separation distress and approach attachment: evidence for opiate mediation of social affect. *Pharmacol Biochem Behav*, 9:213-220.
38. HETTA, J. and TERENIUS, L. (1980): Prenatal naloxone affect survival and morphine sensitivity of rat offspring. *Neurosci Lett*, 16:323-327.
39. HILL, R.C., MAURER, R., BUESCHER, H.H. and ROEMER, D. (1981): Analgesic properties of the GABA-mimetic THIP. *Eur J Pharmacol*, 69:221-224.
40. HUGHES, J., SMITH, T. W., KOSTERLITZ, H. W., FOTHERGILL, L. A., MORGAN, B. A. and MORRIS, H. R. (1975): "Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonistic activity". *Nature*, 258:577-579.
41. HUGHES, J., KOSTERLITZ, H. W. and SMITH, T. W. (1979): The distribution of methionine-enkephalin and leucine-enkephalin in the brain and peripheral tissues. *Brit J Pharmacol*, 61:639-647.

42. HUTCHINGS, D.E., TOWEY, J.P. and BODNARENKO, S.R. (1980): Effects of prenatal methadone on the activity level in the pre-weaning rat. *Neurobehav Toxicol*, 2:331-335.
43. INTURRISI, C. E. (1984): Role of opioid analgesics. *The American Journal of Medicine*, September 10.
44. JAFFE, J. H. and MARTIN, W. R. (1986): Analgésicos y antagonistas opiáceos. En: *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Ed. por Goodman y Gilman. Editorial Médica Panamericana. Argentina. pp. 473-509.
45. JALOWIEC, J. E., PANKSEPP, J., DeESKINAZI, F. and BISHOP, P. (1980): Opioid Control of play and social dominance. *Society for Neuroscience Abstracts*, 6:856.
46. JENSEN, T. and YAKSH, T.L. (1986): II. Examination of spinal monoamine receptors through which brainstem opiate-sensitive systems act in the rat. *Brain Res*, 363:114-127.
47. JOHANNESSON, T. and BECKER, B.A. (1973): Morphine analgesia in rats at various ages. *Acta Pharmacol Toxicol*, 33:429-441
48. JONES, S.E. and BRAIN, P. F. (1985): An illustration of simple sequence analysis with reference to the agonistic behavior of four strains of laboratory mouse. *Behav Proc* 11:365-388.
49. KATZ, R. L., CARROL, B. J. and BALDRIGHI, G. (1978): Behavioral activation by enkephalins in mice. *Pharmacol Biochem Behav*, 8:493-496.
50. KATZ, R.J. and GELBART, J. (1978): Endogenous opiates and behavioral responses to environmental novelty. *Behav Biol* 24:338-348.
51. KELLEY, A.E., STINUS, L. and IVERSEN, S.D. (1980): Interactions between D-Ala-Met-Enkephalin, A10 Dopaminergic neurones and spontaneous behavior in the rat. *Behav Brain Res* 1:3-24.
52. KHACHATURIAN, H., LEWIS, M. E., SCAHFER, M. K. and WATSON, S. J. (1985): Anatomy of CNS opioid systems. *Trends in Neuroscience*, 8 (3):111-119.
53. KIRBY, M. L. (1984): Alterations in fetal and adult responsiveness to opiates following various schedules of prenatal morphine exposure. In: *Neurobehavioral Teratology*. Ed. by Yanai, J. Amsterdam:Elsevier Science Publishers BV. pp 235-248.
54. KIRBY, M. L. and HOTLZMAN, S. G.(1982): Effects of chronic opiate administration on spontaneous activity of fetal rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 16:253269.
55. LORD, J.A.H., WATERFIELD, A.A., HUGHES, J. and KOSTERLITZ, H.W. (1977): Endogenous opioid peptides: Multiple agonists and receptors. *Nature*, 267:495-499.

56. MARTIN, W.R. (1984): Pharmacology of Opioids. *Pharmacol Rev*, 35(4):283-323.
57. LUJAN, M., VALENCIA-FLORES, G. and RODRIGUEZ, R. (1980): Electrically induced narcotic-like dependence in the isolated guinea-pig ileum. *Life Sci*, 27:1687-1693.
58. LUJAN, M. AGUILAR, H. Y RODRIGUEZ, R. (1984): Es la dependencia física a opiáceos una desviación cuantitativa o cualitativa de la normalidad? En: Avances en el mecanismo de acción de los fármacos. Ed. por Contreras, C. M., Cortinas de Nava, C. y Barragan, L. A. Masson Editores. BarcelonaMéxico. pp. 115-133.
59. LUJAN, M. y RODRIGUEZ, R. (1987): Opioides. *Rev Psiquiátrica (Méx)* en prensa.
60. LYNCH, W. C., LIBBY, L. and JOHNSON, H.F. (1983): Naloxone inhibits intermediate aggression in isolated mice. *Psychopharmacol*, 79:370-371.
61. MARWAHA, J. and FRANK, G. B. (1980): Candidate mechanisms for inhibition of neurotransmitter release by narcotic analgesics and endorphins. *Drug Alcohol Dependence*, 5:69-80.
62. MCGINTY, J. F. and FORD, D. H. (1980): Effects of prenatal methadone in rat brain catecholamines. *Dev Neurosci*, 3:224-234.
63. MEDINA, M., GARCIA, E., LUJAN, M. y RODRIGUEZ, R. (1981): Efecto de la administración prenatal de la naltrexona sobre la sensibilidad al dolor y sobre la actividad locomotora en el ratón. V Congreso Nacional de Farmacología. Agosto, Puebla, México.
64. MIDDAGH, L. D. and SIMPSON, L. W. (1980): Prenatal maternal methadone effects on pregnant C57BL/6 mice and their offspring. *Neurobehav Toxicol*, 2:307-313.
65. MONDER, H., YASUKAWA, N. and CHRISTIAN, J. J. (1979): Perinatal naloxone: When does Naloxone affect Hyperaesthesia? *Pharmacol Biochem Behav*, 11:235-237.
66. MOSQUEDA, R. (1982): Encefalinas y endorfinas. *Rev Fac Med (Méx)*.
67. NAKAI, Y., NAKAO, K., OKI, S. and IMURA, H. (1978): *Life Sci*, 23:2013-2018.
68. OLIVERIO, A., CASTELLANO, C. AND PUGLISI-ALLEGRA, S. (1984): Psychobiology of Opioids. *Internat Rev Neurobiol* 25:277-337.
69. O'CALLAGHAN, J. P. and HOLTZMAN S. G. (1976): Prenatal administration of morphine to the rat: Tolerance to the analgesic effect of the offspring. *J Pharmacol Exper Ther*, 193 (3):533-544.

70. O'CALLAGHAN, J. P. and HOLTZMAN, S. G. (1977): Prenatal administration of levorphanol or dextrorphan to the rat: Analgesic effect of morphine in the offspring. *J Pharmacol Exper Ther.* 200 (2):255-262.
71. PANKSEPP, J., HERMAN, B. CONNER, R., BISHOP, P. and SCOTT, J. P. (1978a): The biology of social attachments: opiates alleviate separation distress. *Biol Psychiat.* 13:607-618.
72. PANKSEPP, J., VILLBERG, T., BEAN, N. J. COY, H. and KASTIN, A. J. (1978b): Reduction of distress vocalization in chicks by opiate-like peptides. *Brain Res Bull.* 3:663-667.
73. PANKSEPP, J., NAJAM, N. and SOARES, F. (1979a): Morphine reduces social cohesion in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 11:131-134.
74. PANKSEPP, J. (1979b): The regulation of play: Neurochemical controls. *Society of Neuroscience Abstracts.* 5:172.
75. PANKSEPP, J., HERMAN, B.H., VILLBERG, T., BISHOP, P. and DeESKINAZI, F.G. (1980): Endogenous Opioids and Social Behavior. *Neurosci Biobehav Rev.* 4:473-487.
76. PANKSEPP, J. (1981): Brain opioids-a neurochemical substrate for narcotic and social dependence. In: *Theory in Psychopharmacology.* Ed by Cooper, S. J. London: Academic. pp. 149-175.
77. PANKSEPP, J., JALOWIEC, J., DeESKINAZI, F. G. and BISHOP, P. (1985): Opiates and play dominance in juvenile rats. *Behav Neurosci.* 99 (3):441-453.
78. PANKSEPP, J. (1986): The neurochemistry of behavior. *Ann Rev Psychol.* 37:77-107.
79. PASTERNAK, G. W., GOODMAN, R. and SNYDER, S. H. (1975): An endogenous morphine-like factor in mammalian brain. *Life Sci.* 16:1765-1769.
80. PATEY, G. de la BAUME, S., GROS, C. and SCHWARTZ, J. C. (1980): Ontogenesis of enkephalinergic systems in rat brain: Postnatal changes in enkephalin levels, receptors and degrading enzyme activities. *Life Sci.* 27:245-252.
81. PAUL, L., DIAZ, J. and BAILEY, B. (1978): Behavioral effects of chronic narcotic administration to infant rats. *Neuropharmacol.* 17:655-657.
82. PUGLISI-ALLERGA, S. and OLLIVERIO, A. (1981): Naloxone potentiates shock-induced aggressive behavior in mice. *Pharmacol Biochem Behav.* 15:513-514.
84. RAMABADRAN, K. and JACOB, J. J. C. (1979): Stereospecific effects of opiate antagonists on superficial and deep nociception and on motor activity suggests involvement of endorphins on different opioid receptors. *Life Sci.* 24:1959-1970.

85. REGGIANI, A., BATTAINI, F., KOBAYASHI, H., SPANO, P. and TRABUCCHI, M. (1980): Genotype-dependent sensitivity to morphine: role of different opiate receptor populations. *Brain Res.* 189:289-294.
86. SANDMAN, C. A., MCGIVERN, R. F., BERKA, C., WALKER, J. M., COY, D. H. and KASTIN, A. J. (1979): Neonatal administration of B-endorphin produces "chronic insensitivity to thermal stimuli". *Life Sci.* 25:1755-1760.
87. SOBRIAN, S. K. (1977): Prenatal morphine administration alters behavioral development in the rat. *Pharmacol Biochem Behav.* 7:285-288.
88. SPEAR, L. P., ENTERS, E. K., ASWAD, M. A. and LOUZAN, M. (1985): Drug and environmentally induced manipulations of the opiate and serotonergic systems alter nociception in neonatal rat pups. *Behav Neur Biol.* 44:1-22.
89. TAVANI, A., ROBINSON, L. E. and KOSTERLITZ, H. W. (1985): Differential postnatal development of u-, d- and x-opioid binding sites in mouse brain. *Dev Brain Res.* 23:306-309.
90. TESCHEMACHER, H., OPHEIM, K. E., COX, B. M. and GOLDSTEIN, A. (1975): A peptide-like substance from the pituitary that acts like morphine. I. Isolation. *Life Sci.* 16:1771-1776.
91. THOMPSON, C. I. and ZAGON, I. S. (1982): Decreased dominance in adult rats perinatally exposed to methadone. Eastern Psychological Association, Baltimore, MD.
92. TSANG, D. and NG, S. C. (1980): Effect of antenatal exposure to opiates on the development of opiate receptors in rat brain. *Brain Res.* 188:199-206.
93. UKAI, M. and KAMEYAMA, T. (1985): Multi-dimensional analyses of behavior in mice treated with naltrexone. *Physiol Behav.* 34:311-313.
94. UNSWORTH, B.R., FLEMING, L.H. and CARON, P.C. (1980): Neurotransmitter enzymes in telencephalon, brainstem and cerebellum during the entire life span of the mouse. *Mechanisms of Ageing and Development.* 13:205-217.
95. VELASCO, M., VELASCO, F. y LUJAN, M. (1987): Sensación y percepción del dolor: Criterio interdisciplinario neurofisiológico, quirúrgico y farmacológico. *Arch Inv Med (Méx).* 18:91-103.
96. VORHEES, C. V. (1981): Effects of prenatal naloxone exposure on postnatal behavior development of rats. *Neurobehav Toxicol Teratol.* 3:295-301.
97. WILSON, G. S., McCREARY, R., KEAN, J. and BAXTER, S. C. (1979): The development of preschool children of heroin-addicted mother: A controlled study. *Pediatrics.* 63:135-141.

98. WOHLTMAN, M., ROTH, B. C. and COSCIA, C. J. (1982): Differential postnatal development of mu and delta opiate receptors. *Dev Brain Res*, 3:679-684.
99. WUSTER, M., SCHULZ, R. and HERZ, A. (1980): Inquiry into endorphinergic feedback mechanisms during the development of opiate-dependence. *Brain Res*, 189:403-411.
100. YANAI, J. (1984): In : *Neurobehavioral Teratology* Ed. J. Yanai, Amsterdam: Elsevier Science Publishers BV. pp: V-IX.
101. ZAGON, I. S. and McLAUGHLIN, P. J. (1977a): The effects of different schedules of methadone treatment on the brain development. *Exp Neurol*, 56:538-552.
102. ZAGON, I.S. and McLAUGHLIN, P. J. (1977b): Morphine and Brain Growth Retardation in the rat *Pharmacol*, 15:276-282.
103. ZAGON, I. S. and McLAUGHLIN, P. J. (1978a): Perinatal methadone exposure and its influence on the behavioral ontogeny of rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 9:665-672.
104. ZAGON, I. S. and McLAUGHLIN, P. J. (1978b): Perinatal methadone exposure and brain development: a biochemical study. *Neurochem* 31:49-54.
105. ZAGON, I. S., McLAUGHLIN, P. J. and THOMPSON, C. I.(1979): Development of motor activity in young rats following perinatal methadone exposure. *Pharmacol Biochem Behav*, 10:743-749.
106. ZAGON, I. S. and McLAUGHLIN, P. J. (1981): Enhanced sensitivity to methadone in adult rats perinatally exposed to methadone. *Life Sci*, 29: 1137-1142.
107. ZAGON, I. S. and McLAUGHLIN, P. J. (1983a): Naltrexone modulates growth in infant rats. *Life Sci*, 33:2449-2454.
108. ZAGON, I. S. and McLAUGHLIN, P. J. (1983b): Increased brain size and cellular content in infant rats treated with an opiate antagonist. *Sci*, 221:1179-1180.
109. ZAGON, I. S. and McLAUGHLIN, P. J. (1984a): An overview of neurobehavioral sequelae of perinatal opioid exposure. In: *Neurobehavioral Teratology*. Ed. by Yanai, J. Amsterdam: Elsevier Science Publishers BV. pp. 197-234.
110. ZAGON, I. S. and McLAUGHLIN, P. J. (1984b): Naltrexone modulates body and brain development in rats: A role for endogenous opioid systems in growth. *Life Sci*, 35:2057-2064.
111. ZAGON, I. S. and McLAUGHLIN, P. J. (1985a): Naltrexone's influence on neurobehavioral development. *Pharmacol Biochem Behav*, 22:441-448.
112. ZAGON, I. S. and McLAUGHLIN, P. J. (1985b): Opioid antagonists-induced regulation of organ development, *Physiol Behav*, 34:507-511.

113. ZBINDEN, G. (1981): Experimental methods in behavioral teratology. Arch Toxicol, 48:69-88.
114. ZHANG, A. and PASTERNAK, G. W. (1981): Ontogeny of opioid pharmacology and receptors: High and low affinity site differences. Europ J Pharmacol. 73:29-40.
115. ZIMMERMAN, E., BRANCH, B., TAYLOR, A. N., YOUNG, J. and PANG, C. N. (1974): Long lasting effects of prepuberal administration of morphine in adult rats. In: Narcotics and the Hypothalamus. Ed. E. Zimmerman and R. George Raven Press, New York. pp. 183-196.

*Esta Tesis fué elaborada en su
totalidad en los Talleres de -
Impresos Moya, Rep. de Cuba -
No. 99, Despacho 24.
México 1, D.F.
Sr. Roberto Moya Ahumada.*