

79  
2 ep



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESTUDIO DEL EFECTO LOCOMOTOR DE LA NICOTINA EN  
RATAS PRIVADAS DE SUEÑO DE MOVIMIENTOS  
OCULARES RAPIDOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A:

RAFAEL ERNESTO GARCIA FERREIRO



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Director de Tesis:

DR. RAFAEL J. BALIN PASCUAL

DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES

1996

TESIS CON

FACULTAD DE CIENCIAS  
SECCION DE CIENCIAS

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule  
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Ciencias  
P r e s e n t e

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

*Estudio del efecto locomotor de la nicotina en ratas privadas de sueño de movimientos oculares rápidos*

Elaborado por **Rafael Ernesto García Ferreiro**

con número de cuenta **9177102-7**, pasante de la carrera de **Biología**

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis  
Propietario

Dr. Rafael J. Salín Pascual

Propietario

Dr. Ignacio Camacho Arroyo

Propietario

M. en I.B.B. Gabriel Roldán Roldán

Suplente

Biól. José Aquiles Bernal Moreno

Suplente

Biól. Oscar Cervantes

Consejo Departamental de Biología

COORDINACIÓN GENERAL  
DE BIOLOGÍA

A mis padres, porque son brillantes, gigantes, inalcanzables. Porque son todo lo que soy y más de lo que nunca podré ser. Porque no existen en el mundo palabras para describir lo que siento por ellos. Por su honestidad, su entrega, su pasión a la vida y a la verdad, su cariño infinito, su comprensión, su apoyo, su ejemplo, su valentía, su lucha, por creer en mí, por nunca negarme una mano, porque mi padre me enseñó a pensar, y mi madre a expresar lo que pienso, porque nunca hubiese estado completo, si uno me hubiese faltado... porque los amo... Porque la muerte nos encuentre juntos.

A Marcela, mi amor, mi vida, mi dicha, mi locura. Porque nunca nadie como ella me había hecho sentir tanto. Porque "deseo" es una palabra sin sentido sin su presencia, porque "vida" se convierte en un vacío perdido en su ausencia.

A mi hermana. Porque el tiempo nos haga rebasar todas las barreras y porque ahí estaré siempre que me necesite.

AJ Dr. Rafael Salín, por haberme abierto la puerta de su laboratorio y, así, la de las neurociencias.

A la Dra. Marta Franco, por su infinita paciencia y sus excelentes consejos.

A Erick Izquierdo, por su amistad, su compañerismo, su honestidad, y por haber sido siempre un excelente compañero de trabajo.

A Guadalupe Piña, porque, a pesar de haberme "borrado", jamás me he olvidado de mi mejor compañera de equipo. Porque nunca las diferencias fueron barreras. Por todo lo que aprendí interactuando con ella.

Al Dr. Enrique Piña, porque no existen en el mundo personas que, como él, sepan y puedan pasar por encima de las diferencias personales, religiosas, políticas, éticas o estéticas, para saber valorar a la persona que habita detrás de ellas. Por su confianza, por su honestidad, su ejemplo y su impresionante rectitud. Por ser y haber sido un verdadero maestro.

A Fabio, Fernando, Anabel, Luis, Marisa, Carlos, Leticia y, en general, a todas las personas que trabajan en el laboratorio del Dr. René Drucker, por todo el apoyo, el compañerismo, la amistad y la confianza que me brindaron siempre.

A Andrés Nava, por todas las chelas y las terapias. Porque nunca nos acostumbremos a este mundo que nos incomoda. Por ser el hermano que nunca tuve.

A Hector Arvisu, porque no importa ni qué ni cuánto pase, siempre seremos vecinos. Por la sabiduría y la vida eterna de las tortugas.

A todos los sinodales, que se tomaron la molestia de leer y corregir esta tesis

completa. Por todo lo que he aprendido con sus críticas y por la excelente disposición que tuvieron en todo momento.

A todos los maestros que hicieron de la carrera algo digerible.

A todas y cada una de las ratas que sufrieron mi proceso de aprendizaje. Porque su vida no haya corrido por mis manos en vano. Porque, ojalá que algún día, no corra nunca la sangre de un animal de laboratorio en vano.

Al pueblo de México, que, a pesar de ser extranjero, nunca me hizo sentir extraño. Porque me dio la oportunidad de tener acceso a la educación y a mi formación en su máxima casa de estudios.

A la UNAM y a la Facultad de Ciencias, porque soy, en buena parte, lo que en estos años, he asimilado.

Al Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, por haberme dado la oportunidad de aprender como maestro.

# ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>5</b>
<b>1. EL SUEÑO.</b>	<b>6</b>
<b>2. ETAPAS DEL SUEÑO.</b>	<b>6.</b>
2.1. EL SUEÑO MOR.	7
2.2. PRIVACIÓN SELECTIVA DE SUEÑO MOR.	7
2.3. CONSECUENCIAS DE LA PRIVACIÓN DE SUEÑO MOR.	8
<b>3. SISTEMAS DOPAMINÉRGICOS.</b>	<b>9</b>
3.1. COMPORTAMIENTOS MEDIADOS POR DOPAMINA.	10
3.2. SISTEMAS DOPAMINÉRGICOS Y ESTRÉS.	12
3.3. HIPERSENSIBILIDAD POR AGONISTAS DOPAMINÉRGICOS.	13
3.4. HIPERSENSIBILIDAD POR ANTAGONISTAS DOPAMINÉRGICOS.	15
<b>4. REPERCUSIONES DE LA PRIVACIÓN DE SUEÑO MOR EN LOS SISTEMAS DOPAMINÉRGICOS.</b>	<b>16</b>
<b>5. NICOTINA.</b>	<b>21</b>
5.1. CONDUCTA LOCOMOTORA INDUCIDA POR NICOTINA.	22
5.2. NICOTINA Y SISTEMAS DOPAMINÉRGICOS.	24
5.3. OTROS SITIOS DE ACCIÓN DE LA NICOTINA.	28
5.4. CONSECUENCIAS DEL TRATAMIENTO CRÓNICO CON NICOTINA.	28
<b>OBJETIVOS</b>	<b>32</b>
<b>HIPÓTESIS</b>	<b>32</b>

Al Dr. Enrique Piña, porque no existen en el mundo personas que, como él, sepan y puedan pasar por encima de las diferencias personales, religiosas, políticas, éticas o estéticas, para saber valorar a la persona que habita detrás de ellas. Por su confianza, por su honestidad, su ejemplo y su impresionante rectitud. Por ser y haber sido un verdadero maestro.

A Fabio, Fernando, Anabel, Luis, Marisa, Carlos, Leticia y, en general, a todas las personas que trabajan en el laboratorio del Dr. René Drucker, por todo el apoyo, el compañerismo, la amistad y la confianza que me brindaron siempre.

A Andrés Nava, por todas las chelas y las terapias. Porque nunca nos acostumbramos a este mundo que nos incomoda. Por ser el hermano que nunca tuve.

A Hector Arvisu, porque no importa ni qué ni cuánto pase, siempre seremos vecinos. Por la sabiduría y la vida eterna de las tortugas.

A todos los sinodales, que se tomaron la molestia de leer y corregir esta tesis

completa. Por todo lo que he aprendido con sus críticas y por la excelente disposición que tuvieron en todo momento.

A todos los maestros que hicieron de la carrera algo digerible.

A todas y cada una de las ratas que sufrieron mi proceso de aprendizaje. Porque su vida no haya corrido por mis manos en vano. Porque, ojalá que algún día, no corra nunca la sangre de un animal de laboratorio en vano.

Al pueblo de México, que, a pesar de ser extranjero, nunca me hizo sentir extraño. Porque me dio la oportunidad de tener acceso a la educación y a mi formación en su máxima casa de estudios.

A la UNAM y a la Facultad de Ciencias, porque soy, en buena parte, lo que en estos años, he asimilado.

Al Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, por haberme dado la oportunidad de aprender como maestro.

# ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>5</b>
<b>1. EL SUEÑO.</b>	<b>6</b>
<b>2. ETAPAS DEL SUEÑO.</b>	<b>6</b>
2.1. EL SUEÑO MOR.	7
2.2. PRIVACIÓN SELECTIVA DE SUEÑO MOR.	7
2.3. CONSECUENCIAS DE LA PRIVACIÓN DE SUEÑO MOR.	8
<b>3. SISTEMAS DOPAMINÉRGICOS.</b>	<b>9</b>
3.1. COMPORTAMIENTOS MEDIADOS POR DOPAMINA.	10
3.2. SISTEMAS DOPAMINÉRGICOS Y ESTRÉS.	12
3.3. HIPERSENSIBILIDAD POR AGONISTAS DOPAMINÉRGICOS.	13
3.4. HIPERSENSIBILIDAD POR ANTAGONISTAS DOPAMINÉRGICOS.	15
<b>4. REPERCUSIONES DE LA PRIVACIÓN DE SUEÑO MOR EN LOS SISTEMAS DOPAMINÉRGICOS.</b>	<b>16</b>
<b>5. NICOTINA.</b>	<b>21</b>
5.1. CONDUCTA LOCOMOTORA INDUCIDA POR NICOTINA.	22
5.2. NICOTINA Y SISTEMAS DOPAMINÉRGICOS.	24
5.3. OTROS SITIOS DE ACCIÓN DE LA NICOTINA.	28
5.4. CONSECUENCIAS DEL TRATAMIENTO CRÓNICO CON NICOTINA.	28
<b>OBJETIVOS</b>	<b>32</b>
<b>HIPÓTESIS</b>	<b>32</b>

<b>1. MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES.</b>	<b>33</b>
<b>2. EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE NICOTINA SOBRE LA ACTIVIDAD LOCOMOTORA.</b>	<b>34</b>
2.1. EXPERIMENTO I: INDUCCIÓN DE CONDUCTA LOCOMOTORA POR ADMINISTRACIÓN DE NICOTINA EN RATAS NUNCA EXPUESTAS A ÉSTA.	34
2.2. EXPERIMENTO II: INDUCCIÓN DE CONDUCTA LOCOMOTORA EN RATAS TRATADAS CRÓNICAMENTE CON NICOTINA.	36
2.3. EXPERIMENTO III: EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN PREVIA DE HALOPERIDOL O MECAMILAMINA SOBRE LA ACTIVIDAD LOCOMOTORA INDUCIDA POR NICOTINA EN RATAS NUNCA EXPUESTAS A ÉSTA.	38
2.4. EXPERIMENTO IV: EFECTO DEL ACOSTUMBRAMIENTO PREVIO A LAS CAJAS DE REGISTRO Y DE LA INYECCIÓN EN RATAS HABITUADAS A LA NICOTINA.	41
<b>3. EFECTO DE LA PRIVACIÓN DE SUEÑO MOR SOBRE LA ACTIVIDAD LOCOMOTORA INDUCIDA POR NICOTINA.</b>	<b>43</b>
3.1. EXPERIMENTO V: EFECTO DE LA NICOTINA EN LA ACTIVIDAD LOCOMOTORA DE RATAS NUNCA EXPUESTAS A ÉSTA Y PRIVADAS DE SUEÑO MOR POR 96 HORAS.	43
3.2. EXPERIMENTO VI: EFECTO DE LA NICOTINA SOBRE LA CONDUCTA LOCOMOTORA DE RATAS HABITUADAS A LA NICOTINA PRIVADAS DE SUEÑO MOR POR 96 HORAS.	45
3.3. EXPERIMENTO VII: EFECTO DE 24, 48 Y 72 HORAS DE PRIVACIÓN DE SUEÑO MOR SOBRE LA CONDUCTA LOCOMOTORA INDUCIDA POR NICOTINA EN RATAS NUNCA EXPUESTAS A ÉSTA.	53
3.4. EXPERIMENTO VIII: EFECTO DE 24, 48 Y 72 HORAS DE PRIVACIÓN DE SUEÑO MOR SOBRE LA CONDUCTA LOCOMOTORA INDUCIDA POR NICOTINA EN RATAS HABITUADAS A ÉSTA.	57

4. EFECTO DEL ESTRÉS Y DEL PRETRATAMIENTO CON UN NEUROLÉPTICO SOBRE LA CONDUCTA LOCOMOTORA INDUCIDA POR NICOTINA EN RATAS TOLERANTES.	62
4.1. EXPERIMENTO IX: EFECTO DEL ESTRÉS POR INMOVILIZACIÓN POR DOS HORAS SOBRE LA CONDUCTA LOCOMOTORA DE RATAS HABITUADAS A LA NICOTINA.	62
4.2. EXPERIMENTO X: EFECTO DEL TRATAMIENTO POR 5 DÍAS CON HALOPERIDOL SOBRE LA CONDUCTA LOCOMOTORA INDUCIDA POR NICOTINA EN RATAS TOLERANTES.	63
5. EFECTO LOCOMOTOR DE LA <i>D</i> -ANFETAMINA SOBRE RATAS PRIVADAS DE SUEÑO MOR POR 96 HORAS.	66
5.1. EXPERIMENTO XI:	66
<b><u>DISCUSIÓN GENERAL</u></b>	<b>70</b>
<b><u>CONCLUSIONES</u></b>	<b>77</b>
<b><u>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u></b>	<b>78</b>

## RESUMEN

Los efectos estimulantes y adictivos de muchos psicoestimulantes parecen radicar en la capacidad que tienen éstos de interactuar con receptores dopaminérgicos o de provocar la liberación de dopamina de las terminales dopaminérgicas mesolímbicas.

Entre los efectos más notorios que se le han atribuido a la nicotina sobre el comportamiento de animales de experimentación, se encuentra su capacidad para inducir un incremento en la actividad locomotora en ratas, tanto habituadas como nunca expuestas a la droga. Sin embargo, en éstas últimas, el efecto estimulante de la conducta locomotora subyace a un primer efecto depresor de la droga (caracterizado por postración casi completa del animal). Dicho efecto depresor inicial desaparece cuando los animales son expuestos a la droga ya sea varias veces al día o pocas veces por semana, y junto con su desaparición es evidente un estado de sensibilización a los efectos estimulantes.

Dado que se ha demostrado que la nicotina es capaz de provocar la liberación y, en menor medida, de evitar la recaptura de dopamina de las terminales dopaminérgicas del estriado y del núcleo accumbens, de igual manera a lo que lo hace la *D*-anfetamina, se ha asociado a dicha capacidad de agonista dopaminérgico indirecto con el incremento en la conducta locomotora. De hecho, se ha demostrado que existen receptores colinérgicos nicotínicos somatodendríticos y presinápticos en las neuronas de los sistemas dopaminérgicos nigroestriatales y mesolímbicos, y que la estimulación de la conducta locomotora está correlacionada temporalmente con un aumento en la transmisión dopaminérgica mesolímbica.

Se ha reportado que, después de un tiempo prolongado (72 a 96 horas) de privación de sueño de movimientos oculares rápidos (sueño MOR), las ratas muestran un largo período (30 a 35 min.) de insomnio, que se caracteriza por un alto grado de actividad locomotora, comportamiento exploratorio, alerta y alta reactividad ante estímulos del ambiente. Asimismo, está reportado que la privación de sueño MOR provoca un bien caracterizado estado de hiper-responsividad ante agonistas dopaminérgicos (estereotipias orales, agresión, verticalizaciones e incremento de la conducta locomotora). Los substratos neuroanatómicos que subyacen a dicha hiper-responsividad no han sido dilucidados con claridad.

En este trabajo intentamos demostrar que la conducta locomotora inducida por nicotina puede ser potenciada por la previa privación de sueño MOR en la rata. Se utilizaron como modelos experimentales tanto ratas nunca antes expuestas a la nicotina como ratas con tratamiento crónico diario con este alcaloide. En ambos modelos se utilizaron distintos tiempos de privación de sueño MOR (24, 48, 72 y 96 horas). Los resultados obtenidos indican que, si bien la nicotina induce un aumento significativo en la conducta locomotora de ratas privadas de sueño MOR, ésta es de igual magnitud inicial y de menor duración que aquella que induce en ratas sin manipulación de sueño.

# INTRODUCCIÓN

Concieme a este trabajo la conjunción y el análisis de dos paradigmas operantes en áreas muy distintas y distantes dentro de las neurociencias. Por un lado, el estudio del sueño y, por el otro, el análisis conductual de los efectos de un fármaco administrado sistémicamente.

Dentro del estudio del sueño existe, desde hace casi veinticinco años, el paradigma de que la privación selectiva de una de las fases del sueño, el sueño de movimientos oculares rápidos (o sueño MOR), provoca, en animales, un estado fisiológico de hipersensibilidad e hiper-responsividad ante drogas como la apomorfina, la *D*-anfetamina y la cocaína, que tienen en común el ser agonistas (directos, como la apomorfina o indirectos como las otras dos) de receptores dopaminérgicos. Paradójicamente, la dopamina ha sido relacionada, desde su descubrimiento, no con la inducción ni la regulación del sueño ni de sus fases, sino con el mantenimiento de la vigilia, del grado de reactividad ante estímulos medioambientales, con procesos de aprendizaje y memoria, con coordinación locomotora, etc.

La dopamina es uno de los neurotransmisores más investigados, en primer lugar, porque, mucho antes de su descubrimiento, antagonistas a su acción fueron utilizados, y mal utilizados, como neurolépticos (drogas anti-psicóticas). El descubrimiento del mecanismo de acción clínica de estas drogas, dio nacimiento a la psicofarmacología moderna. Paralelamente, el descubrimiento de que la enfermedad de Parkinson tiene una base anatomo-patológica (específicamente, una lesión de las células dopaminérgicas dentro de la sustancia nigra) dio nacimiento a un número extraordinario de investigaciones básicas y clínicas sobre la transmisión dopaminérgica nigro-estriatal. Otra de las razones del auge de estos campos de investigación, que cobra mayor importancia a medida que nos acercamos al fin del siglo, es que se ha descubierto que el sistema dopaminérgico se encuentra estrechamente relacionado (de manera directa o indirecta) con los efectos psicoestimulantes y adictivos de una buena parte de los estupefacientes consumidos de manera legal (alcohol etílico, cafeína, nicotina y algunos derivados anfetamínicos) o ilegal (anfetaminas, (-)- $\Delta^9$ -trans-tetrahidrocannabinol, cocaína, barbitúricos, opiáceos, etc.). La reacción ética y legal de la sociedad ante la utilización de dichas sustancias nunca será adecuada sin un conocimiento completo del complejo fenómeno en cuestión, además de que la rehabilitación de personas adictas a alguna droga nunca podrá llevarse a cabo óptimamente mientras no se conozcan las bases fisiológicas de la dependencia.

La última de las razones por las que los sistema dopaminérgicos son tan ampliamente estudiados es que su lesión, estimulación o manipulación farmacológica puede tener grandes y profundas consecuencias en las funciones neurofisiológicas y en el comportamiento de animales de experimentación. Entre los comportamientos afectados por la estimulación dopaminérgica directa o indirecta, se encuentra la conducta locomotora. Típicamente, agonistas dopaminérgicos aumentan la locomoción y los antagonistas suelen generar hipocinesia o catalepsia.

La nicotina es tal vez, después de la cafeína, la sustancia psicoactiva más consumida en el mundo. A pesar de que no interactúa con los receptores dopaminérgicos, se sabe que las neuronas dopaminérgicas poseen receptores nicotínicos que las hacen sensibles a la presencia de esta droga. Así, se ha demostrado que, tanto *in vitro* como *in vivo*, la nicotina,

aplicada local o sistémicamente, induce la liberación e inhibe la recaptura de dopamina. Aunque las células dopaminérgicas distan con mucho de ser las únicas en expresar receptores nicotínicos y de ser sensibles a la presencia de nicotina, se cree en la actualidad que los efectos estimulantes y adictivos de dicha droga residen, al menos en parte, en su capacidad de interactuar con los sistemas dopaminérgicos centrales.

El paradigma operante, desde hace más de diez años, en este caso es que, la nicotina, como agonista dopaminérgico indirecto (es decir que no estimula los receptores dopaminérgicos sino que induce la liberación de dopamina), estimula la conducta locomotora de ratas y que ésta es proporcional al grado de sensibilización del sistema (tanto a la nicotina como a la dopamina).

Finalmente, es importante dejar dicho que tanto la privación de sueño MOR, desde hace más de un cuarto de siglo, como la nicotina, desde hace relativamente poco tiempo, se utilizan clínicamente para el tratamiento de la depresión en humanos, o para explorar la fisiopatología de la misma. Sin embargo, a la fecha, no existen datos que permitan proponer o descartar su utilización conjunta en el tratamiento de este mal. Aunque los resultados de experimentos llevados a cabo en animales son difícilmente extrapolables a individuos humanos, son herramientas indispensables para el avance del conocimiento científico y médico.

## 1. EL SUEÑO.

Nos pasamos, aproximadamente, un tercio de nuestra vida durmiendo. Al acostamos por la noche, entramos en un estado alterado de conciencia que dura algunas horas. Dejamos de ver, oír y sentir conscientemente lo que acontece a nuestro alrededor. A este estado lo llamamos sueño. El mundo del sueño y el mundo de la vigilia son tan diferentes, que pudiera decirse que todos nosotros vivimos en dos mundos (Borbély, 1993). El dormir es un comportamiento activo y no únicamente la ausencia de vigilia. El sueño es una actividad especial del cerebro, controlada por mecanismos elaborados y precisos. No es simplemente un estado de reposo, el sueño tiene sus propias funciones específicas (Hobson, 1989).

El desarrollo de la electroencefalografía, por Berger en 1929, fue crucial para la investigación del cerebro y constituyó una llave para el estudio de los procesos cerebrales internos. En el caso del sueño, permitió detectar cambios en el nivel de vigilancia sin tener que recurrir al informe verbal del propio sujeto (Corsi-Cabrera, 1983).

## 2. ETAPAS DEL SUEÑO.

A partir de un registro polisomnográfico, (es decir un registro simultáneo del electroencefalograma, del electromiograma y del electroculograma), en humanos, pueden distinguirse cuatro estadios característicos de sueño. Los estadios del 1 al 4, del llamado *sueño de ondas lentas*, están caracterizados por frecuencias progresivamente más cortas y actividades de alto voltaje y se corresponden con estadios sucesivamente más profundos de sueño. Durante el sueño de ondas lentas los músculos están relajados, pero la actividad somática no está ausente. Una persona normal hace un ajuste importante en la postura corporal cada veinte minutos y, algunos, lo hacen cada cinco. Durante el sueño de ondas lentas, la actividad pa-

rasimpática predomina. La frecuencia cardíaca y la presión sanguínea disminuyen y la movilidad gastrointestinal aumenta. El umbral para despertarse en el sueño lento varía inversamente con la frecuencia del electroencefalograma (EEG); por lo tanto, el sueño lento de ondas delta del estadio 4 es el más difícil de interrumpir.

## 2.1. EL SUEÑO MOR.

Cerca de noventa minutos después del comienzo del sueño, ocurren varios cambios fisiológicos abruptos. El EEG se vuelve desincronizado y muestra un patrón de actividad rápido de bajo voltaje similar, pero no idéntico, al del estadio de vigilia. Como resultado, este estadio del sueño ha sido llamado de varias maneras como sueño paradójico, sueño activo y sueño desincronizado. El registro con electrodos profundos, en animales, ha mostrado que si bien la actividad cortical está desincronizada, el EEG hipocámpal está altamente sincronizado a 4-10 Hz (ondas teta).

Este patrón cerebral activo y elaborado está acoplado con la pérdida profunda del tono muscular a lo largo de todo el cuerpo. Solamente aquellos músculos esqueléticos que controlan el movimiento de los ojos, los osículos del oído medio y la respiración escapan de esta parálisis generalizada. El sujeto pierde de manera súbita su capacidad para regular la temperatura corporal, que comienza a cambiar en dirección a la del ambiente. Esto es un reflejo de una supresión amplia de la actividad simpática; otro, es una contracción pupilar severa (miosis). Poco después de haber sido descubierto, este estadio de sueño fue correlacionado temporalmente con una alta movilidad de los ojos, lo que llevó a que se denominara también sueño de movimientos oculares rápidos (sueño MOR), nombre que suele predominar sobre las otras denominaciones.

Durante este sueño MOR, el umbral para despertar por estímulos ambientales es elevado; por lo tanto, por el criterio de dificultad para despertar, el MOR es el estadio más profundo de sueño. Al mismo tiempo el MOR es el estadio en el que más fácilmente despierta un individuo por estímulos internos. Finalmente, la mayor parte de los sujetos que son despertados en este estadio informan ensoñaciones mientras que menos de la mitad de aquellos despertados en sueño de ondas lentas informan alguna actividad mental.

El sueño de los roedores, mamíferos pequeños y aves está caracterizado por únicamente dos estadios distintos: un sueño lento y un sueño activado equivalente al sueño MOR de humanos (Kelly, 1991). El sueño lento puede, a su vez, diferenciarse en *sueño lento de tipo I (SL-I)* y *sueño lento de tipo II (SL-II)*, el primero equivalente a los estadios 1 y 2 del sueño en humanos y el segundo a los estadios 3 y 4. Hay autores que proponen que el sueño lento puede ser dividido en un *sueño ligero*, caracterizado por ondas lentas de 2 a 3 ciclos por segundo, y un *sueño profundo*, en las que las ondas se vuelven más lentas, llegando a 1 a 3 ciclos por segundo y un mayor voltaje (Corsi-Cabrera, 1983).

## 2.2. PRIVACIÓN SELECTIVA DE SUEÑO MOR.

En humanos, la privación de sueño MOR se realiza despertando manualmente al sujeto cada vez que el registro polisomnográfico indique que ha entrado a sueño MOR. La privación total de sueño MOR no conlleva psicosis, ni a comportamientos raros, ni ansiedad ni irritabilidad. Sujetos privados de sueño MOR por 16 días no muestran ningún signo de perturba-

ción psicológica. Incluso, la medicación crónica con inhibidores de la monoamino oxidasa puede hacer desaparecer virtualmente al sueño MOR y las ensoñaciones por años sin ninguna consecuencia psicológica deletérea aparente (Kelly, 1991). El efecto más importante que tiene la privación de sueño MOR es un cambio dramático en los patrones de sueño subsiguientes cuando al sujeto le es permitido dormir sin interrupción. La privación de sueño MOR por varias noches es seguida por una iniciación más temprana, aumento en la duración y frecuencia incrementada de periodos de sueño MOR. Entre más largo es el periodo de privación, más grande y largo es este *rebote* de sueño MOR. La existencia de un mecanismo compensatorio activo para la recuperación de sueño MOR perdido sugiere que el sueño MOR es fisiológicamente necesario (Kelly, 1991; Salin-Pascual & Jiménez-Anguiano, 1995).

Por mucho, la técnica más frecuentemente utilizada para la privación de sueño MOR en animales es la llamada técnica del florero invertido, también llamada la técnica de la plataforma, del pedestal o del tanque de agua. En este procedimiento, el animal reside sobre una pequeña plataforma, originalmente una maceta invertida cuya base sobresale apenas de la superficie del agua que la rodea. Los animales experimentales son colocados sobre plataformas más pequeñas que los controles. Teóricamente, la plataforma experimental permite la vigilia y el sueño de ondas lentas pero no el sueño MOR porque la plataforma es tan pequeña que, por la pérdida de tono muscular al comienzo de cada periodo MOR, el animal es despertado a medida que comienza a caer al agua. Y, teóricamente, la plataforma control es lo suficientemente grande como para permitir todos los estadios del sueño (Vogel, 1975).

Haciendo registros polisomnográficos *in situ*, se ha visto que, durante las primeras 24 horas de privación, no existen diferencias significativas en la cantidad de sueño MOR entre ratas control y experimentales; sin embargo, durante las últimas 24 horas de un tiempo de privación de 96, las ratas en las plataformas pequeñas tienen significativamente menos sueño MOR que aquellas que han permanecido sobre plataformas grandes o con respecto a los valores basales. Así, las ratas de las plataformas grandes se adaptan a la situación y regresan a sus niveles basales durante las 96 horas de privación. Durante el primer día fuera de las cajas de privación (después de las 96 horas de privación de sueño MOR) las ratas que permanecieron sobre las plataformas pequeñas tienen significativamente más sueño MOR que las ratas que permanecieron sobre las plataformas grandes o aquellas que no han sido sometidas a manipulación alguna y las ratas que permanecieron sobre plataformas grandes no tienen ningún rebote de sueño MOR. De hecho, se ha demostrado que este método es capaz de suprimir en casi el 100% la aparición de sueño MOR y en cerca de un 60% al sueño lento, durante el periodo de confinamiento (Vogel, 1975; Wojcik & Radulovacki, 1981).

Con excepción de los casos en los que se haga una mención específica, durante todo el tiempo que se haga referencia a privación de sueño de movimientos oculares rápidos (privación de sueño MOR), se estará aludiendo a dicho método de la plataforma.

### 2.3. CONSECUENCIAS DE LA PRIVACIÓN DE SUEÑO MOR.

Además de sus acciones específicas sobre el sueño, el modelo experimental de la privación de sueño MOR por el método de la plataforma, ha sido considerado como un modelo de estrés, en el cual la privación de sueño se encuentra entre otros factores que, juntos, constituyen un estresor mucho más general (aislamiento, inmovilización, caídas al agua, etc.) (Demontis *et al.*, 1990). Así se ha descrito que, un tiempo prolongado de privación de sueño

MOR (72 horas o más), provoca en las ratas un largo período (30-35 minutos) de insomnio caracterizado por un alto grado de conducta locomotora, comportamiento exploratorio, alerta y alta reactividad ante estímulos del ambiente, características por las cuales, la privación de sueño MOR ha sido considerada como un modelo de insomnio inducido por estrés (Frauta *et al.*, 1987).

La privación de sueño MOR parece incrementar los indicadores de vigilia central y excitabilidad, particularmente la excitabilidad cortical (Vogel, 1975). Ratas que han sido privadas de sueño MOR por 48 y 96 horas demuestran un aumento en el comportamiento agresivo espontáneo frente a ratones, conocido como conducta muricida, cuando son colocados juntos. Esta conducta muricida aumenta a medida que se incrementa el tiempo de privación de sueño MOR y no es desplegado de manera significativa ni por ratas que no han sido sujetas a manipulación alguna ni por ratas que han sido confinadas sobre plataformas grandes (Hicks *et al.*, 1979).

Extractos de *Cannabis indica* o soluciones de su compuesto activo, (-) $\Delta^9$ -trans-tetrahidrocannabinol, inyectados a ratas privadas de sueño MOR por 72 o 96 horas, son capaces de despertar en éstas comportamientos agresivos de mayor intensidad y duración que aquel que se induce en ratas control o no manipuladas (Carlini, 1977). Este incremento en el comportamiento agresivo puede ser disminuido o inhibido pretratando a las ratas con neurolépticos y  $\alpha$ -metil-*p*-tirosina o administrando intraventricularmente norepinefrina, mientras que la administración de L-DOPA o el pretratamiento con un inhibidor de la síntesis de norepinefrina, Fla-63, potencian dicho efecto (Carlini *et al.*, 1971).

Entre otros efectos que tiene la privación de sueño MOR sobre la fisiología de las ratas, se encuentra una bien caracterizada hiper-responsividad ante agonistas dopaminérgicos directos (p.e., apomorfina) o indirectos (p.e., *d*-amfetamina). Esta hiper-responsividad es determinada en relación a comportamientos estereotipados específicos en los que las vías dopaminérgicas tienen una participación importante. Entre éstos, se ha observado que altas dosis de apomorfina son capaces de despertar comportamientos agresivos entre ratas confinadas por pares. Ratas sometidas a privación de sueño MOR por 72 horas tienen un comportamiento agresivo mucho mayor que las ratas control (plataformas grandes) o que las ratas mantenidas en sus cajas, después de una inyección de apomorfina (Tufik *et al.*, 1978). Las máximas diferencias en comportamiento agresivo se encuentran con una dosis en la cual, las ratas mantenidas en sus cajas, no demuestran comportamiento agresivo alguno y las ratas control, muy poco. La nomifensina, un potente inhibidor de la recaptura de dopamina, también es capaz de despertar comportamientos agresivos en ratas privadas de sueño MOR por 72 horas, en dosis que generan índices de comportamiento agresivo significativamente menores en ratas control de estrés y que no generan en absoluto dicho comportamiento en ratas no manipuladas (Carlini *et al.*, 1971).

### 3. SISTEMAS DOPAMINÉRGICOS.

El origen de los sistemas dopaminérgicos ascendentes se encuentra en el mesencéfalo, en la sustancia nigra pars compacta y, la más medialmente localizada, área ventrotectal; los dominios terminales principales son el estriado de los ganglios basales, y la corteza prefrontal. Se acostumbra referir al estriado como dividido en dos porciones: la porción dorsal (caudado-putamen) y la porción ventral (núcleo accumbens, tubérculo olfatorio y cabeza

ventromedial del núcleo caudado). Estas dos porciones son innervadas por las proyecciones dopaminérgicas mesostriatales y mesolímbicas, respectivamente. El sistema dopaminérgico mesolímbico también innerva estructuras límbicas como la amígdala y el septum lateral, además de innervar al núcleo accumbens, que ha sido considerado como una "interfase límbico-motora". Existe también una proyección dopaminérgica mesocortical que innerva principalmente la corteza anterior en la rata, pero que, en los primates, se extiende a regiones más posteriores de la corteza, incluyendo a los lóbulos temporal y parietal. Debe de hacerse notar que, existen también proyecciones dopaminérgicas ascendentes al tálamo, descendentes al locus coeruleus y al cerebelo, y que la dopamina se encuentra también en sistemas locales del hipotálamo, la eminencia media y la glándula pituitaria, así como en neuronas locales de los sistemas sensoriales olfatorio y retinal (Robbins, 1992).

La dopamina, quizás más que cualquier otro transmisor en el cerebro, es responsable del funcionamiento normal del campo terminal que innerva: después de la lesión de las terminales dopaminérgicas la función no puede ser expresada normalmente, aunque sigue presente, como si esa región estuviese en un estado desordenado y como si, por su sola presencia, la dopamina fuese capaz de restablecer la función. El código dopaminérgico es altamente dependiente de la naturaleza y localización de sus receptores. Cinco subtipos de receptores dopaminérgicos han sido clonados y, molecularmente, caracterizados: D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, D<sub>4</sub> y D<sub>5</sub>. A pesar de que los receptores D<sub>5</sub> tienen una afinidad mucho mayor por la dopamina que los receptores D<sub>1</sub>, estos dos receptores pertenecen a la misma familia, con base en su perfil farmacológico ante agonistas y antagonistas. De una manera análoga, se ha demostrado que el perfil farmacológico es similar entre los receptores D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> y D<sub>4</sub>. En este punto, la biología molecular ha sobrepasado a la farmacología en la caracterización de éstos receptores. Esto es, se han aislado RNAm para cada uno de los subtipos de receptor, mientras que no existen agonistas ni antagonistas altamente selectivos para cada uno de estos subtipos. Así, es difícil o imposible identificar cual de los subtipos de receptor es el responsable de cierta respuesta fisiológica. Por simplicidad, en los trabajos farmacológico-conductuales, se hace referencia a, únicamente, las dos familias de receptores mencionados anteriormente: los receptores de la familia D1 (que comprende a los receptores D<sub>1</sub> y D<sub>5</sub>) y los receptores de la familia D2 (que comprende a los receptores D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> y D<sub>4</sub>) (Kalivas, 1993; Kostrzewa, 1995).

### 3.1. COMPORTAMIENTOS MEDIADOS POR DOPAMINA.

Desde hace varios años está claro que el comportamiento locomotor espontáneo, desplegado por una rata cuando es colocada en un ambiente nuevo, es dependiente de la integridad de los sistemas dopaminérgicos centrales. La depleción de dopamina reduce dicho comportamiento y, por el contrario, la sobrestimulación de los receptores dopaminérgicos provoca un incremento del mismo (Iversen, 1977). La propiedad de movimiento dirigido que poseen la mayor parte de los animales es una característica que los diferencia de otras criaturas y es, en buena parte, responsable de su habilidad para manipular el medio en el que se desarrollan. De hecho, el comportamiento motor activo parece ser crucial para el desarrollo de la percepción y el aprendizaje (Kelly, 1977). Los comportamientos que aseguran la sobrevivencia de los individuos y de la especie aparecen, durante la ontogenia, en el repertorio de comportamientos sin necesidad de experiencias de aprendizaje específicas. El comer, beber, copular y la agresión caen dentro de esta categoría, de los llamados *comportamientos no-condicionados*. La conducta locomotora espontánea es otro de dichos comportamientos no-

condicionados que juega un papel importante en el mantenimiento del animal en una relación homeostática tanto con su ambiente interno como externo, y es considerada un índice sensible del estado fisiológico general de un animal y de su responsividad al ambiente. La locomoción del cuerpo completo consigue el desplazamiento de un lugar a otro y es, por tanto, un prerrequisito para todas las formas de comportamientos específicos motivados, como la alimentación, copulación o pelea. Además de ser un corolario de la motivación en general, la actividad locomotora refleja también la motivación específica generada por un ambiente nuevo ó elementos novedoso (Iversen, 1977).

Farmacológicamente, las drogas que tienen efectos sobre los comportamientos locomotores pueden ser clasificadas en aquellas que principalmente deprimen la actividad y en aquellas que la estimulan. Entre las primeras se encuentran los barbitúricos, neurolépticos (drogas antipsicóticas), inhibidores de la síntesis o almacenamiento de catecolaminas y algunos agentes colinómiméticos. Entre aquellas que tienen una acción estimulante se incluyen las anfetaminas y compuestos relacionados, cocaína, morfina y otros opiáceos, y agonistas nicotínicos (Kelly, 1977). Las drogas que liberan dopamina en el cerebro, como la anfetamina, o drogas que actúan como agonistas de los receptores dopaminérgicos, como la apomorfina, producen incrementos en la expresión de la conducta locomotora espontánea. Por el contrario, las drogas neurolépticas, que bloquean a los receptores dopaminérgicos, reducen marcadamente dicha actividad espontánea. No todas las drogas clasificadas como neurolépticas son bloqueadoras específicas de los receptores dopaminérgicos. Algunos neurolépticos bloquean un amplio espectro de receptores catecolaminérgicos, tanto a los receptores a dopamina como a norepinefrina, mientras que otros son bloqueadores altamente potentes y específicos de receptores a dopamina. Estos últimos, como el spiroperidol, haloperidol y alfa-flupentixol, producen, por sí solos, todos los efectos depresores de la actividad locomotora, indicando que el bloqueo de los receptores dopaminérgicos es una condición suficiente para la inhibición del comportamiento locomotor (Iversen, 1977).

A medida que más neuronas dopaminérgicas son estimuladas por altas dosis de drogas psicoestimulantes, más aumentan las tasas de respuesta pero, en paralelo, estas respuestas se vuelven menos variadas y son de menor adaptabilidad. La transmisión dopaminérgica es afectada de manera distinta cuando es inyectado un agonista directo (apomorfina) o uno indirecto (anfetamina). A pesar de que ambos tipos de agonistas incrementan la cantidad total de actividad locomotora, la anfetamina induce un patrón conductual relativamente variado, mientras que la apomorfina induce un comportamiento repetitivo y la perseveración de éste dentro de un rango restringido de respuestas recurrentes. Para una especie dada y en un ambiente dado, algunas respuestas son seleccionadas de manera que la actividad es confinada y encausada a un área espacial cada vez más pequeña y para propósitos cada vez más restringidos y eventualmente estereotipados. La estereotipia, que puede ser definida como la repetición invariante de secuencias de comportamiento, ocurre en todas las especies de mamíferos, incluyendo a los primates, como resultado de altas dosis de drogas estimulantes. Un salto ocurre desde una facilitación progresiva de la secuencia de respuestas conductuales a un comportamiento progresivamente desorganizado y fragmentado; desde patrones complejos a patrones simples, y desde facilitación sensorio-motora y exploración del medio en el que se encuentra, flexibilidad y adaptación, en los que el comportamiento está constantemente abierto al ambiente, a un encauzar de la integración sensorio-motora y, finalmente, a

una activación masiva de los sistemas de salida motora que cierran al organismo al exterior, y sumergen al sujeto en la estereotipia (Le Moal & Simon, 1991).

Ratas a las que se les han lesionado las terminales dopaminérgicas del mesencéfalo medio ventral o del núcleo accumbens, mediante la aplicación local de 6-hidroxidopamina (6-OHDA), muestran hipoactividad, un bloqueo completo de los efectos estimulantes de la locomoción de la anfetamina y una respuesta locomotora hipersensible y profunda a apomorfina, sin que exista bloqueo de la estereotipia inducida por ésta. Por el contrario, ratas con lesiones con 6-OHDA del caudado-putamen no muestran ninguno de los cambios en la respuesta locomotora, pero sí demuestran cambios en la estereotipia inducida por drogas, de manera que la respuesta estereotipada con anfetamina es reducida y aquella inducida con apomorfina es potenciada. Las inyecciones de dopamina directamente en el núcleo caudado generan comportamientos estereotipados, mientras que los neurolepticos producen catalepsia y eliminan los comportamientos estereotipados producidos por drogas. En contraparte, la estimulación directa, por aplicación local de dopamina, de los receptores mesolímbicos, y no de los estriales, estimula la actividad locomotora, y la estimulación de la actividad locomotora inducida por anfetamina es bloqueada por la inyección bilateral de un antagonista dopaminérgico directamente en el núcleo accumbens o por la infusión de 6-hidroxidopamina en el mismo. La microinyección de una dosis alta de apomorfina intracerebralmente en el núcleo accumbens genera hiperactividad, sin afectar los índices de comportamientos estereotipados, y dosis más bajas generan hipomotilidad. Tanto la hiper como la hipomotilidad generadas por altas y bajas dosis de apomorfina administrada localmente en el núcleo accumbens son antagonizadas de manera dosis dependiente con el pretratamiento con haloperidol y sulpiride (Kelly, 1977; Radhakishun & Van Ree, 1987; Clarke *et al.*, 1988; Van Ree *et al.*, 1989; Le Moal & Simon, 1991).

La expresión de comportamientos estereotipados en la rata depende de una interacción funcional entre receptores dopaminérgicos D1 y D2 post-sinápticos. La estimulación específica de receptores D1 no induce comportamientos estereotipados. La estimulación de receptores dopaminérgicos de tipo D2 post-sinápticos induce una estimulación central caracterizada por hiperactividad y movimientos de cabeza estereotipados (estereotipias de componente bajo). Agonistas parciales a D2, esto es compuestos que son agonistas selectivos para autorreceptores, no inducen ningún tipo de comportamiento estereotipado, sino sedación. La hiperactividad puede ser inducida por la estimulación selectiva de receptores D2 post-sinápticos, aunque los patrones de hiperactividad inducida por agonistas a D2 dependen en alguna medida de la activación de receptores D1 producida por dopamina endógena. Por otra parte, tanto los receptores de tipo D1 como los de tipo D2 deben ser estimulados simultáneamente para que se expresen estereotipias orales (De Arm *et al.*, 1988; Cabib *et al.*, 1991).

### 3.2. SISTEMAS DOPAMINÉRGICOS Y ESTRÉS.

Existen relaciones de retroalimentación entre el funcionamiento de las vías catecolaminérgicas, las respuestas hormonales y el estrés: Lesiones de la proyección dopaminérgica mesoaccumbica inducen un síndrome conductual complejo, que puede ser interpretado en términos de dificultad para adaptarse e inhabilidad para lidiar con situaciones conflictivas. Por el contrario, cuando las vías dopaminérgicas son hiperactivadas o sensibilizadas, el organismo es hipersensible al estrés físico o psicológico y a psicoestimulantes. Tanto los psicoestimulantes como el estrés medioambiental activan al sistema pituitario-adrenal y al factor liberador de

hormona corticotrópica e incrementan la utilización de dopamina en las neuronas dopaminérgicas mesotelencefálicas e hipotalámicas. Se ha demostrado que la sensibilización de las neuronas dopaminérgicas a psicoestimulantes altera tanto la respuesta de las mismas neuronas dopaminérgicas como la del eje hipotalámico-pituitario-adrenal al estrés subsecuente (Thierry *et al.* 1976; Fagda *et al.* 1978; Le Moal & Simon, 1991).

### 3.3. HIPERSENSIBILIDAD POR AGONISTAS DOPAMINÉRGICOS.

Las neuronas dopaminérgicas pueden ser sensibilizadas por administración intermitente repetida de psicoestimulantes. La existencia de esta sensibilización conductual (o tolerancia inversa) involucra cambios progresivos y perdurables en el comportamiento, aunque requiere generalmente de un reto farmacológico o psicológico para que sea evidente, dado que un estado hipersensible en las neuronas dopaminérgicas no es necesariamente obvio durante las condiciones de reposo de estado estacionario (Le Moal & Simon, 1991).

La mayor parte de los efectos conductuales inducidos por la administración de un agonista dopaminérgico, se vuelven más intensos con la administración repetida del psicoestimulante, y esta sensibilidad incrementada persiste por semanas o meses después de la interrupción del tratamiento, acompañada de una rápida habituación de los efectos autonómicos que tienen dichas drogas, incluyendo aquellos sobre la temperatura corporal y los efectos anoréxicos. Prácticamente, los animales previamente expuestos al psicoestimulante, cuando son tratados subsecuentemente con la misma droga, desarrollan respuestas estereotipadas más intensamente, con una latencia más corta y de una manera más sensible, esto es, con dosis más bajas que en la exposición inicial. La locomoción y las conductas de auto-aseo son estimuladas, pero los incrementos en las estereotipias y la locomoción son, generalmente, mutuamente excluyentes. La hiperactividad es generalmente observada al comienzo y al final de la sesión. El patrón de la locomoción es normal, en la mayor parte de los aspectos, a pesar de que parece mostrarse de una manera anormalmente estereotipada. Debe de notarse que la administración repetida sensibiliza muchos otros comportamientos, como el umbral de respuesta auditivo, autoestimulación intracraneal, comportamiento inducido por un pellizo en la cola y el desempeño en varias tareas. La posibilidad de que estén involucrados cambios centrales en la sensibilización es fuertemente apoyada por el hecho de que ratas que reciben inyecciones sistémicas repetidas del psicoestimulante son hiperresponsivas a los efectos conductuales de una administración intraventricular subsecuente de la droga (Le Moal & Simon, 1991).

Las características temporales de las inyecciones de la droga son críticas, ya que determinan la dirección de la adaptación celular y conductual: la estimulación crónica está asociada con el desarrollo de tolerancia e incluso lesiones, y la estimulación intermitente con tolerancia inversa o sensibilización. Asimismo, este fenómeno no es especie específico y ha sido observado en una gran variedad de animales (Le Moal & Simon, 1991).

Bajas dosis de apomorfina administradas a una rata, inducen hipocinesia, mientras que altas dosis inducen hiperactividad. Una sola dosis de apomorfina (5 mg/kg) modifica ambas respuestas a dosis subsecuentes de apomorfina: la hipocinesia no puede ser inducida por bajas dosis (0.15 mg/kg) mientras que, por el contrario, la hiperactividad es significativamente aumentada. Los efectos de la amfetamina son similares a los de la apomorfina. El pretratamiento con apomorfina reduce la respuesta hipocinética e incrementa la respuesta hi-

percinética a la anfetamina. La hipocinesia producida por bajas dosis de agonistas dopaminérgicos ha sido atribuida a la estimulación de los llamados autorreceptores, mientras que la hipercinesia depende de receptores post-sinápticos. Los primeros juegan un papel importante en la regulación de la síntesis y liberación de transmisor por la terminal sináptica. La estimulación de los autorreceptores lleva a una disminución en la síntesis y liberación de dopamina y, por lo tanto, a una disminución en la estimulación de los receptores postsinápticos. La actividad presináptica reducida generará, entonces, supersensibilidad del receptor postsináptico, y, por ello, la respuesta al agonista del sitio postsináptico se verá incrementada (Iversen, 1977).

El tratamiento con agonistas selectivos a receptores de tipo D1, de tipo D2 o una combinación de ambos, da resultados completamente distintos cuando éstos son evaluados frente a un reto con apomorfina. La estereotipia inducida por ésta es potenciada por un tratamiento con agonistas a receptores de tipo D1 y es inhibida con el tratamiento con agonistas a receptores de tipo D2 o al tratamiento con una mezcla de ambos agonistas. Por otra parte, las estereotipias locomotoras inducidas por apomorfina en animales tratados con cualquier agonista, por separado, no difieren de aquellas de los animales control, mientras que el tratamiento conjunto potencia significativamente la frecuencia de estos comportamientos. La actividad locomotora es reducida en ratas tratadas crónicamente con agonistas a D1, mientras que aquellas pretratadas con un agonista a D2 muestran una potenciación de la conducta locomotora, paralela a la inhibición de la estereotipia. Es de notarse que la actividad locomotora inducida por un agonista a receptores de tipo D2 es potenciada únicamente con la previa estimulación crónica intermitente de ambos tipos de receptores, y que la exposición crónica a agonistas de receptores de tipo D1 aumenta la respuesta frente a un reto con el mismo agonista. Estas observaciones sugieren que la estimulación crónica del receptor D1 puede ser tanto necesaria como suficiente para el desarrollo de supersensibilidad de comportamientos inducidos por agonistas dopaminérgicos. Más aún, en ratones macho, el antagonista a D1, SCH 23390, puede bloquear la hiperactividad inducida por cocaína, mientras que el haloperidol previene dicha hiperactividad a dosis que son, *per se*, hipoquinéticas. En contraste con la hipersensibilización producida por la administración crónica de agonistas a D1, la estimulación crónica de receptores de tipo D2 produce una subsensibilización de un comportamiento inducido por agonistas dopaminérgicos. Además, el tratamiento crónico con agonistas selectivos a D2 induce una regulación hacia abajo (un descenso en la cantidad total de receptores) de dicha población de receptores (Braun & Chase, 1988; Cabib *et al*, 1991).

Por otra parte, ha sido demostrado que el contexto medioambiental y el condicionamiento juegan un papel importante en el proceso de sensibilización. La experiencia previa con los comportamientos inducidos por cocaína, en el mismo contexto medioambiental, parece ser un prerrequisito para que se desarrolle la sensibilización a la misma droga: los animales tratados y después evaluados con cocaína en dos ambientes distintos no muestran el incremento en responsividad conductual que se observa con animales tratados y evaluados en el mismo lugar. Ha sido postulado que los efectos de los estimulantes psicomotores, al igual que aquellos de muchas otras drogas como los opiáceos, son dependientes de los parámetros de procedimientos utilizados, como la dosis, el intervalo entre inyecciones y el paradigma de evaluación (Le Moal & Simon, 1991).

Un medio ambiente dado (el ambiente de evaluación) puede actuar como un estímulo condicionado si su presencia es apareada temporalmente con la administración de una droga

psicoactiva, de manera que el comportamiento previamente inducido únicamente por el estímulo incondicionado, eso es, la droga, es eventualmente inducido por el ambiente en ausencia de la droga. Es de la opinión de ciertos autores que el condicionamiento droga-ambiente es al menos parcialmente responsable del desarrollo de la sensibilización. Típicamente, la sensibilización es más pronunciada después de la administración de psicoestimulantes en presencia de características ambientales previamente asociadas con la administración de la droga, que en su ausencia, y este fenómeno es atenuado por la exposición repetida a las características ambientales pre-administración de la droga seguidos de la administración de solución salina; es decir, es un fenómeno extinguido, lo cual sugiere que puede encontrarse involucrado algún tipo de condicionamiento pavloviano. Sin embargo, es innegable que la sensibilización puede ocurrir sin un condicionamiento droga-ambiente. Las razones que se dan para sugerir lo anterior son las que siguen:

1. Cuando las variables del condicionamiento son minimizadas, alojando a los animales continuamente en las cajas de prueba, la administración repetida del psicoestimulante aún produce sensibilización.
2. No es necesario tratar a los animales en el ambiente de evaluación o aparear la administración de la droga con un único ambiente de evaluación para producir sensibilización, cualquiera sea la variable medida.
3. La posibilidad de que el condicionamiento interoceptivo pueda jugar un papel en la sensibilización, lo cual es frecuentemente sugerido como una vía para explicar las propiedades estimulantes de la droga, no es apoyada por estudios que muestran que, bajo condiciones experimentales adecuadas, una inyección de salina falla en mimetizar los efectos de la droga en animales sensibilizados.
4. Las respuestas conductuales cambian con el tiempo cuando las ratas reciben dosis bajas repetidas de psicoestimulantes, y estas respuestas evolucionan de un patrón que resulta de la administración de bajas dosis (i.e., hiperactividad) a un patrón que resulta de una alta dosis (estereotipia), lo cual no es consistente con una hipótesis de condicionamiento, ya que la respuesta que se asume que es condicionada (locomoción), desaparece y es reemplazada por una nueva respuesta.
5. Es difícil imaginar que el condicionamiento pueda ser responsable de los efectos sostenidos obtenidos después de una sola exposición a la droga. Más aún, el hecho de que una sola inyección de la droga (psicoestimulante, neuroléptico, ansiolítico, antidepresivo y otros agentes psicotrópicos) produzca aumentos duraderos de las respuestas conductuales medidas, está en contraposición con la mayor parte de los paradigmas de condicionamiento, los cuales requieren de un apareamiento considerable entre los estímulos condicionados e incondicionados.
6. Las respuestas sensibilizadas crecen con el paso del tiempo, mientras que las respuestas condicionadas decrecen con el tiempo.

### **3.4. HIPERSENSIBILIDAD POR ANTAGONISTAS DOPAMINÉRGICOS.**

El bloqueo persistente de los receptores dopaminérgicos inducido por el tratamiento crónico con neurolépticos resulta también en supersensibilidad dopaminérgica, medida experimentalmente por la respuesta a agonistas de acción directa o indirecta, y visto clínicamente como disquinesia tardía. Ésta está caracterizada por movimientos, a menudo involuntarios, anor-

males de los músculos faciales y de las extremidades, y constituye una de las principales complicaciones del tratamiento a largo plazo con drogas neurolépticas, sobre todo porque puede perdurar por meses o años después de que se ha desconstruido el tratamiento. Un descenso en la dosis, o la finalización del tratamiento, agudizan los síntomas, mientras que un incremento en la dosis los alivia. Ya que una de las acciones principales de los neurolépticos es el bloqueo de los receptores dopaminérgicos en el cerebro, se ha vinculado la disquinesia tardía con una supersensibilidad de receptores dopaminérgicos. Ésto explicaría porque se observa una reducción temporal en los síntomas con un aumento de la dosis (Burt *et al.*, 1976; Muller & Seeman, 1977).

En ratas, el comportamiento estereotipado inducido por apomorfina es más intenso después de un tratamiento crónico con haloperidol y puede ser inducido con dosis mucho más bajas que las normales, incluso con una dosis que no produce agresión en los controles. Esta agresión parece, en ratas, ser máxima después de siete días de terminado el tratamiento y es aún evidente veinte días después de terminado el mismo. Estos resultados sugieren que, cuando se elimina la estimulación dopaminérgica normal, los receptores aumentan en número, lo que resulta en la expresión de una respuesta más grande de lo normal. Como las consecuencias bioquímicas del bloqueo de los receptores dopaminérgicos son temporales, no puede deberse a ello este cambio a largo plazo en la respuesta conductual a apomorfina (Gianisios *et al.*, 1974; Christensen *et al.*, 1976; Iversen, 1977). La supersensibilidad a agonistas dopaminérgicos posterior a un tratamiento con antagonistas dopaminérgicos puede ser prevenida por la administración de apomorfina, mientras que ni el tratamiento adicional con compuestos colinérgicos ni con anticolinérgicos, durante la fase de tratamiento con neurolépticos, tienen influencia sobre el desarrollo subsecuente de la sensibilización (Christensen & Møller-Nielsen, 1979). De hecho, se ha demostrado que el tratamiento crónico por más de una semana con neurolépticos con actividad antiesquizofrénica (haloperidol y flufenazina) aumenta en alrededor de un 20% el mareaje con haloperidol o spiperona triados, aumento que parece ser debido a un incremento en el número total de receptores sin cambio en la afinidad de los mismos (Burt *et al.*, 1976; Fuchs *et al.*, 1987). Muy altas dosis de haloperidol (10 mg/kg) en tratamiento crónico diario por tres semanas, inducen, cuarenta y ocho horas después de finalizado el tratamiento, un incremento significativo en la unión de haloperidol triado (34% en el estriado y 45% en la región mesolímbica) y en la unión de apomorfina triada (77% en el estriado y 55% en la región mesolímbica) (Muller & Seeman, 1977).

Un estado de supersensibilidad ante estimulantes de receptores dopaminérgicos es también evidente cuando la actividad sináptica dopaminérgica es reducida al inhibir la síntesis de dopamina con  $\alpha$ -metiltirosina, depletando las reservas de dopamina con reserpina o haciendo lesiones en el tracto dopaminérgico nigroestriatal con 6-hidroxidopamina (Farsy & Baldessarini, 1974; Burt *et al.*, 1976).

#### 4. REPERCUSIONES DE LA PRIVACIÓN DE SUEÑO MOR EN LOS SISTEMAS DOPAMINÉRGICOS.

Parecen existir, por lo menos, dos enfoques opuestos y antagónicos en la explicación fisiológica de estos fenómenos conductuales. Por un lado, existe la hipótesis de que, el incremento en responsividad ante un agonista dopaminérgico, es mediado por supersensibilidad de

receptores, lo cual es atribuido, por lo menos en parte, a un supuesto incremento en número de los receptores dopaminérgicos de la familia D2. En el otro extremo, se encuentra la idea de que existe un incremento en la transmisión dopaminérgica inducida por la privación de sueño MOR, que sería aditivo a los efectos de agonistas dopaminérgicos y, por tanto, la hiper-responsividad sería el resultado de la sobreacumulación de ligando en el espacio sináptico, que actuaría sobre receptores inalterados o, inclusive, disminuidos en número. Evidentemente, estas dos posturas son incompatibles desde el punto de vista que, hasta donde se sabe, los receptores de la familia D2 responden aumentando en número frente a una baja en la concentración de ligando, mientras que sólo disminuyen en número frente a un aumento en la concentración del mismo. Sin embargo, ambas posturas parecen contar con evidencias experimentales que apoyan sus alternativas hipótesis.

En cuanto a las evidencias experimentales que apoyan la hipótesis de la hiper-responsividad por supersensibilidad de receptores, el incremento en la actividad agresiva inducida por anfetamina después de 96 horas de privación de sueño MOR podría no deberse a una acumulación de dopamina extracelular después de la privación de sueño, puesto que, el pretratamiento L-DOPA no estimula el comportamiento agresivo en ratas no privadas de sueño MOR. Tampoco estimula dicho comportamiento el pretratamiento, en ratas no privadas, con  $\alpha$ -methyl-p-tyrosina (AMPT) diariamente. Por otra parte, ratas pretratadas con AMPT simultáneamente a la privación de sueño MOR muestran tanto comportamiento agresivo como aquellas que sólo fueron privadas (Tufik, 1981a). Finalmente, el comportamiento agresivo estimulado por apomorfina después de 96 horas de privación de sueño MOR es completamente bloqueado si se administra una dosis baja de haloperidol (antagonista inespecífico de receptores dopaminérgicos) a las 94 horas de privación de sueño MOR. Sin embargo, si el haloperidol se administra tanto a las 72 como a las 94 horas, se potencia en gran medida el efecto agresivo despertado por la apomorfina a dosis muy bajas, lo que podría indicar que el haloperidol y la privación de sueño MOR, estarían actuando de la misma manera (Tufik, 1981b).

La hiper-responsividad, medida en cuanto a índice en estereotipias, ante un reto con apomorfina persiste por las siguientes 8 a 24 horas post-privación de sueño MOR por 72 horas. Sin embargo, el comportamiento agresivo desaparece recién entre el cuarto y octavo día si las ratas son mantenidas en grupo y persiste hasta 64 días si las ratas son mantenidas aisladas después de la privación de sueño MOR (Zelger & Carlini, 1982). Ésto se ha tomado como evidencia de que estos dos fenómenos son dependientes de dos sistemas dopaminérgicos distintos y que, en aquel que media la conducta agresiva, las alteraciones son probablemente a nivel de receptores dopaminérgicos.

El pretratamiento con anfetamina o L-DOPA disminuye significativamente la estereotipia y la agresión inducida por apomorfina en ratas privadas de sueño MOR por 96 horas, (Troncone *et al.*, 1988). Estos resultados sugieren que la liberación de catecolaminas en el espacio sináptico por la anfetamina, así como el incremento en la concentración de dopamina en las terminales nerviosas por L-DOPA, reducen la responsividad de los animales privados de sueño MOR a la apomorfina, apoyando la hipótesis de que el incremento en responsividad ante un agonista dopaminérgico es mediada por supersensibilidad de receptores, que se desarrollaría en respuesta a una baja en la concentración de ligando en el espacio sináptico.

La conducta de bostezo, en ratas, puede ser estimulada por drogas que estimulan la transmisión colinérgica (p.e., agonistas muscarínicos como la pilocarpina o inhibidores de la

acetil-colinesterasa como la fisostigmina) o por agonistas dopaminérgicos a bajas dosis (que actuarían preferencialmente sobre autorreceptores, e inhibirían la transmisión dopaminérgica). Se ha reportado que, animales sujetos a privación de sueño MOR por 96 horas, muestran un menor número de bostezos en respuesta a apomorfina, pilocarpina y fisostigmina. De éstos compuestos, ni la pilocarpina ni la apomorfina pudieron producir, en las ratas privadas de sueño MOR, el mismo número de bostezos que las ratas control (mantenidas en sus cajas), ni siquiera en las dosis más altas utilizadas. Así, el bostezo sería indicativo de un bajo nivel de vigilia, mediado por la activación de la población más sensible de autorreceptores dopaminérgicos (Tuftik *et al*, 1987).

Si, utilizando el mismo diseño experimental anterior, se deja recuperar durante 24 horas a las ratas, después de las 96 horas de privación de sueño MOR (Neumann *et al*, 1990), se observa que el número de bostezos, en las ratas privadas de sueño MOR, en respuesta a apomorfina permanece reducido en comparación con las ratas control. Sin embargo, la conducta inducida por pilocarpina ha regresado a niveles control y aquella a fisostigmina es encontrada inhibida sólo en las dosis más bajas. Según los autores, los resultados se explicarían por una persistente supersensibilidad de receptores dopaminérgicos que siguen inhibiendo al sistema colinérgico, mientras que un colinomimético, que elude dicho punto de control (pilocarpina), no tendría ningún problema para actuar sobre receptores colinérgicos normalmente funcionales. De hecho, es opinión de los autores que, es de esperarse que el sistema que primero se recupera es el menos afectado por la manipulación y que, por tanto, la privación de sueño MOR actúa inicialmente sobre el sistema dopaminérgico, afectando al colinérgico de una manera secundaria.

Con base en estudios autorradiográficos se ha reportado que 96 horas de privación de sueño MOR inducen efectos substancialmente diferentes en sitios D1 y D2 de unión a dopamina. Mientras que los receptores a D1 sólo se encontraron aumentados en número en una de treinta regiones mapeadas (corteza entorinal), esencialmente todas las regiones mapeadas para D2 (núcleo accumbens, bulbo olfatorio y caudado-putamen) tenían un marcaje elevado con respecto al control (ratas no manipuladas). De todos estos últimos, el núcleo accumbens fue el que presentó un mayor aumento en el marcaje para D2 (+ 44.6%), y, a pesar de que el marcaje fue elevado a través de todo el caudado-putamen, los efectos parecieron ser más pronunciados en la región intermedia que en la rostral o caudal (Nunes *et al*, 1994).

En contraste con el informe anterior, otros grupos han encontrado que el período de insomnio post-privación de sueño MOR por 72 horas está correlacionado con un incremento en el marcaje para receptores D1 en el sistema límbico, y que, de hecho, el período de insomnio subsecuente a la privación de sueño MOR se reduce significativamente tras la administración de un antagonista selectivo a D1 (SCH 23390) y se incrementa por la administración del agonista selectivo SKF 38393, sin que exista dicha correlación para receptores de tipo D2, ni con cambios en la concentración de receptores de tipo D1 en el estriado. Además encontraron el aumento en número de receptores D1 asociado a un incremento en la actividad de la adenilato ciclasa estimulada por dopamina (Demomis *et al*, 1990; Fadda *et al*, 1993).

Ahora bien, en cuanto a los reportes que apoyan la hipótesis de hiper-reactividad ante agonistas dopaminérgicos por aumento en la transmisión dopaminérgica debida a la privación de sueño MOR, se ha encontrado que la actividad de la enzima tirosina hidroxilasa (TH, enzima clave en la síntesis de catecolaminas) se encuentra aumentada después de 96

horas de privación de sueño MOR en homogeizados de cerebro completo, parte inferior del tallo cerebral (puente y médula) y en la corteza cerebral. Este aumento en la actividad de la enzima limitante en la síntesis de catecolaminas podría repercutir en un probable incremento en la formación de aminas biogénicas durante el periodo de privación de sueño MOR (Sinha *et al.* 1973). Compatible con esta deducción se encuentra el hecho de que, en homogenizados de cerebro completo, se ha encontrado un aumento selectivo en los niveles de los metabolitos del catabolismo de la dopamina, ácido homovanílico (HVA) y ácido dihidroxifenilacético (DOPAC), después de seis horas posteriores a 96 horas de privación de sueño MOR (momento en el cual se observan los más altos niveles de sueño MOR) (Wojcik & Radulovacki, 1981). Otros autores informan que la elevación en la concentración de DOPAC puede ser detectada también inmediatamente después de 96 horas de privación de sueño MOR en el estriado y no en la corteza prefrontal. Junto a esto, no encuentran cambios significativos en la concentración de receptores D2, ni en la inhibición de la actividad de la tirosina hidroxilasa por apomorfina ni en la actividad basal de dicha enzima, indicando que no existen cambios en la sensibilidad de los autorreceptores debido a la privación de sueño MOR (Farber *et al.* 1983).

Dosis muy bajas de apomorfina (25 y 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) administradas a ratas no manipuladas, disminuyen significativamente la actividad locomotora y los animales parecen estar sedados. Dichos efectos parecen estar mediados por acción preferencial de la apomorfina sobre autorreceptores. Sin embargo, la administración de las mismas dosis a ratas privadas de sueño MOR por 72 horas, pero no por 24 horas, induce alerta y comportamiento agresivo. Según los autores que han reportado lo anterior, estos hallazgos no serían congruentes con la hipótesis de un aumento en el número de receptores dopaminérgicos de tipo D2, ya que, si esto fuera así, la estimulación de autorreceptores daría como resultado un decremento del disparo de células dopaminérgicas, y de síntesis y liberación de dopamina en el estriado y sistema límbico (Serra *et al.* 1981). De acuerdo con este punto de vista, se ha reportado, con base en un estudio autorradiográfico, analizando la unión de espiroperidol tritado para detectar los cambios en los receptores de tipo D2, que existe una disminución dependiente del tiempo de privación, y evidente a partir de las 48 horas de privación de sueño MOR, tanto en la  $B_{\text{max}}$  como en la  $K_D$  de dichos receptores, cuando se compara al grupo privado de sueño MOR contra valores basales de ratas no manipuladas. Sin embargo, estos cambios no parecen ser específicos a la privación de sueño MOR ya que no difieren substancialmente con respecto a los controles de estrés (plataformas grandes) utilizados, en ningún caso (Zwicker & Calil, 1986).

Un reporte que podría ser congruente con los anteriores indica que, la privación de sueño MOR por cuarenta y ocho horas, en ratones, parece tener efectos bien dispares sobre dos comportamientos evocados por apomorfina: actividad locomotora y estereotipias. La apomorfina (0.75-6.0  $\text{mg}/\text{kg}$ ) induce comportamientos estereotipados con magnitud dosis-dependiente y dicha intensidad no parece variar entre ratones privados de sueño MOR y no manipulados. En ambos grupos la apomorfina (mismo rango de dosis) estimuló la conducta locomotora. Esta no pareció ser estadísticamente diferente entre ambos grupos cuando es comparada punto por punto (cada 5 minutos), pero, cuando se comparó la actividad locomotora acumulada en 60 minutos post inyección de apomorfina, se vio que, la conducta locomotora fue significativamente menor en el grupo privado de sueño MOR en las dosis más altas utilizadas (3 y 6  $\text{mg}/\text{kg}$ ), mientras que la conducta locomotora basal fue ligera pero

no significativamente mayor en el grupo privado de sueño MOR. Los niveles de dopamina (medidos 180 minutos post-privación de sueño MOR) en el estriado y núcleo accumbens de ratas privadas y no manipuladas no difirió significativamente, mientras que aquellos de DOPAC se encontraban incrementados en ambas estructuras en el grupo privado (Asakura *et al.*, 1992).

Por último, existe un artículo (Hamdi *et al.*, 1993) en el que se reporta que, en el estriado de ratas privadas de sueño MOR por 96 horas, hay un aumento significativo en las densidades ( $B_{max}$ ) de receptores tanto D1 como D2 comparados con el grupo control (plataformas grandes), y una disminución en la afinidad ( $K_D$ ) de los receptores D2 y de los sitios de recaptura. Una baja en la afinidad de los sitios de recaptura podría, según los autores, repercutir en un incremento de la transmisión dopaminérgica, de la misma manera que lo haría un incremento en la relación D1/D2 después de la privación de sueño MOR. Una transmisión dopaminérgica aumentada facilitaría la expresión de comportamientos mediados por el sistema dopaminérgico. Sin embargo, cuando se comparan los resultados obtenidos, en ratas privadas de sueño MOR por 96 horas, con aquellos de ratas mantenidas en sus cajas sin ser estresadas, los resultados se vuelven equivocados y, los únicos cambios aparentes restantes son una disminución en la  $K_D$  para D1, en la  $B_{max}$  y  $K_D$  para D2 y un aumento en la relación D1/D2.

Las conclusiones que se obtienen a partir de todos éstos trabajos son poco claras y dependen también del reconocimiento de un segundo tipo de nivel de discrepancia posible a través de los trabajos: el control utilizado. Mientras que ciertos trabajos comparan los efectos de la privación de sueño MOR contra ratas que no han sufrido manipulación alguna, otros autores intentan "disecar" el fenómeno y obtener conclusiones acerca de los efectos específicos que tiene la privación de sueño MOR comparándolos con ratas que han sido colocadas en condiciones experimentales parecidas que difieren únicamente en el diámetro de la plataforma utilizada, que permitiría el ingreso de los animales a sueño MOR, pero que también restringiría sus movimientos y las colocaría en un ambiente similarmente estresante.

Si de los trabajos anteriores comparamos únicamente los resultados entre ratas privadas de sueño MOR y ratas no manipuladas, tenemos reportes tanto de aumento en número de receptores de tipo D1, baja en la  $K_D$  para D1, sin cambios en la concentración de D1, aumento en la concentración de D2, sin cambios en el receptor D2, disminución en el número y afinidad de receptores de tipo D2 y aumento en la concentración de catabolitos dopaminérgicos tanto inmediatamente después como seis horas después de la privación de sueño MOR. Como ya se dijo al principio no es posible reunir estos resultados en una sola posible explicación del fenómeno, ni el análisis de los procedimientos experimentales utilizados muestra índices de discrepancias lo suficientemente grandes como para poder atribuir a ellos la divergencia en observaciones existentes. Por lo tanto, una sola cosa es segura: de alguna manera (al estimular o inhibir la transmisión dopaminérgica) la privación de sueño MOR por el método de la plataforma genera en las ratas un estado de hiper-responsividad ante agonistas dopaminérgicos.

## 5. NICOTINA.

Unos 4500 compuestos se forman al arder el tabaco; el humo puede separarse en una fase gaseosa y otra sólida o particulada, cuya composición exacta no depende únicamente de la composición del tabaco mismo sino también de la densidad con que se lo empaca, la longitud de la columna de tabaco, las características del filtro y del papel, y la temperatura a la cual se quema el tabaco (que, entre otras cosas, depende de la velocidad de inhalación del humo). Entre los componentes de la fase gaseosa se encuentran el monóxido de carbono, anhídrido carbonico, óxidos de nitrógeno, amoniaco, nitrosaminas volátiles, cianuro de hidrógeno, compuestos volátiles azufrados, nitrilos y otros compuestos nitrogenados, hidrocarburos volátiles, alcoholes, aldehídos y cetonas (acetaldehído, formaldehído y acroleína). La fase particulada contiene nicotina, agua y "alquitrán"; este último es lo que queda después de remover la humedad y la nicotina, y está constituido principalmente por hidrocarburos aromáticos policíclicos (Goodman, 1991). A pesar de la enorme cantidad de sustancias diferentes que se generan en el proceso de combustión del tabaco, una sola sustancia, la nicotina, produce la mayor parte de los efectos farmacológicos inmediatos del fumar sobre las funciones corporales, incluyendo los efectos adictivos sobre el cerebro y el comportamiento (Stolerman & Shoab, 1991). Así, el consenso actual es que la gente consume productos derivados del tabaco a largo plazo principalmente para autoadministrarse nicotina por sus acciones sobre el sistema nervioso central (Clarke, 1990). La posibilidad de que existan otras sustancias en el tabaco que contribuyan a los efectos psicofarmacológicos del fumar no puede ser excluida, a pesar de que, en la gran mayoría de los casos donde existe evidencia disponible, los efectos han sido atribuibles a la nicotina.

La nicotina es un compuesto lipofílico que, suspendida sobre diminutas partículas de alquitrán, se absorbe fácilmente en el pulmón, casi con la eficiencia de la administración intravenosa (un cigarrillo fumado en una máquina estándar libera unos 17 mg de alquitrán y alrededor de 2 mg de nicotina). El compuesto llega al cerebro ocho segundos después de su inhalación, alcanzando concentraciones plasmáticas máximas en fumadores habituales de entre 25 y 50 ng/ml, con una vida media de eliminación de 30 a 60 minutos. En los animales, la nicotina es rápidamente absorbida después de su administración sistémica. Las concentraciones pico ocurren dentro de unos 15 minutos después de una inyección subcutánea, con una vida media en el cerebro de la rata de 60 a 90 minutos (Goodman, 1991; Clarke, 1987; Hakan & Ksir, 1991).

La nicotina produce, en el cuerpo, un elevado y variado número de efectos, cuya expresión varía entre distintos individuos y, sobre todo, entre individuos tolerantes y no tolerantes. Tanto en el sistema nervioso central como en el periférico, la nicotina mimetiza ciertas acciones del neurotransmisor acetilcolina. En el sistema nervioso periférico, la nicotina actúa sobre dos tipos de receptores colinérgicos: aquellos de tipo C6, que se encuentran principalmente en los ganglios autónomos, donde la transmisión colinérgica nicotínica es selectivamente bloqueada por el antagonista cuaternario hexametonio, y los receptores de tipo C10, encontrados en la unión neuromuscular, en donde el decamethonium constituye un antagonista selectivo. Las evidencias acerca de la posible existencia de receptores similares a los de tipo C10, en el cerebro de los mamíferos, es equívoca. Por el contrario, la mayor parte, si no todas las acciones de la nicotina que ocurren a dosis conductualmente relevantes pueden ser bloqueadas por antagonistas C6 selectivos que penetran bien en el sistema nervioso central (Clarke *et al.*, 1985; Clarke, 1987; Stolerman & Reavill, 1989). Las drogas que penetran

pobremente al cerebro, como el hexametonio y la clorisondamina, no bloquean la respuesta a nicotina ni sus efectos conductuales; por otra parte, las drogas como la mecamilamina y la pempidina, que traspasan bien la barrera hematoencefálica, son altamente efectivas en el bloqueo de las respuestas conductuales (Stolerman & Reavill, 1989); es por ello que los efectos conductuales de esta droga han sido atribuidos a una acción central (Clarke 1987).

La nicotina que absorbe un fumador típico causa un cuadro de alerta en el electroencefalograma (actividad rápida de bajo voltaje) y, al mismo tiempo, un menor tono muscular esquelético, menor amplitud en el electromiograma y disminución de los reflejos tendinosos profundos. Fumando uno o dos cigarrillos se produce un significativo aumento de las concentraciones plasmáticas de somatotropina, cortisol, hormona antidiurética, norepinefrina, epinefrina y glicerol. La nicotina causa náusea y vómitos, en parte, por estimulación de la zona gatillo de quimiorreceptores del bulbo raquídeo y por activación de los reflejos vagales que intervienen en el acto de vomitar. Se desarrolla tolerancia a algunos efectos de la nicotina. Sin embargo, incluso el fumador crónico experimenta, después de uno o dos cigarrillos, aumento de la presión arterial y pulso, menor temperatura corporal y aumento de la concentración plasmática de hormona antidiurética, cortisol, norepinefrina y somatotropina, aunque ya no se producen los mareos, náuseas y vómitos experimentados por las individuos no tolerantes. Aunque los fumadores parecen metabolizar más rápidamente la nicotina que los no fumadores, es probable que la tolerancia se deba a cambios farmacodinámicos y no a alteraciones de la eliminación de la droga (Goodman, 1991). En los animales, dosis conductualmente relevantes del alcaloide pueden atenuar profundamente los reflejos espinales por un mecanismo sensible a mecamilamina, que probablemente refleje una excitación directa de las células espinales de Renshaw, por lo que la depresión conductual que se ve en animales no tolerantes a la nicotina, puede ser, al menos parcialmente, de origen espinal (Clarke, 1987), aunque un síntoma de postración característica acompañada por depresión locomotora y ataxia es observado cuando cantidades relativamente pequeñas de nicotina, son inyectadas directamente en el cuarto ventrículo y estructuras cerebrales asociadas (Stolerman & Shoab, 1991).

Se han reconocido dos formas de tolerancia a la nicotina. La primera, llamada "tolerancia crónica", en ratas, es inducida por dosis múltiples de nicotina y se pierde únicamente de forma gradual, siendo detectable aún después de muchas semanas de abstinencia. Con inyecciones intermitentes (una o más diarias), se desarrolla también tolerancia crónica frente a los efectos depresores inducidos por la nicotina, pero no se desarrolla tolerancia a sus efectos estimulantes. La segunda forma de tolerancia transitoria, que es llamada "tolerancia aguda" o "taquifilaxis", se desarrolla y subsiste por minutos u horas después de una única administración de nicotina y, por analogía con el sistema nervioso autónomo, la tolerancia aguda podría reflejar la desensibilización de receptores centrales, aunque aún no existen evidencias experimentales de ello (Clarke, 1987; Hakan & Ksir, 1991; Caggiola *et al.*, 1993; Benwell *et al.*, 1995).

### 5.1. CONDUCTA LOCOMOTORA INDUCIDA POR NICOTINA.

Se considera que, en el hombre, la nicotina tiene tanto acciones estimulantes como depresoras. En muchos estudios con animales, se ha encontrado que la droga puede tanto estimular como deprimir la actividad locomotora no condicionada, cuando es administrada en dosis

altas subconvulsivas (generalmente se considera óptima una dosis de 0.4 mg/kg de peso base ó 1.0 mg/kg de peso de la sal).

La nicotina, en ratas nunca antes expuestas a ella y no habituadas a las cajas de registro, tiene un efecto inicial depresor dosis dependiente, que dura aproximadamente veinte minutos, que es seguido por un efecto estimulante de la locomoción, que se expresa como una pendiente de decremento de la actividad locomotora menor que aquella de ratas inyectadas con solución salina (Clarke & Kumar 1983a; Welzl *et al.*, 1990). El decremento en la actividad locomotora es un fenómeno complejo y no todas las variables que se engloban dentro del término de "conducta locomotora" son afectadas por igual. Asimismo, existen discrepancias en la literatura en cuanto a cuáles y de qué manera son afectadas las variables. Para algunos, la nicotina parece inducir un decremento en las medidas de movimientos verticales, un incremento en el número de movimientos horizontales y un decremento en la velocidad promedio de los movimientos, sin afectar los índices de estereotipias (Jerome & Sanberg, 1987; Reavill & Stolerman, 1990); mientras que otros encuentran que la distancia viajada se incrementa (junto con el número de movimientos, tiempo de movimiento y rotaciones) y los movimientos verticales se incrementan a dosis bajas y decrecientan a altas, con un incremento en la estereotipia en todas las dosis (Ksir, 1994). En ratas no tolerantes, las diferencias encontradas en las tasas de respuesta en diversos trabajos, parecen depender principalmente de la dosis, el tiempo post-inyección en el que se registra la actividad y la tasa de respuesta pre-droga. Generalmente, se observa una acción depresora de la nicotina después de la administración de una dosis alta, especialmente si las tasas de actividad del control son altas (correlacionadas con un no-acostumbramiento previo de las ratas a las cajas de registro), y puede estar acompañada por ataxia y cierto grado de postración. Por el contrario, si se administran dosis bajas o el registro de actividad es llevado a cabo después de cierto tiempo post-inyección, cuando las tasas de actividad del control son bajas, o si las ratas son acostumbradas previamente a las cajas de registro, es común ver una acción estimulante sobre la locomoción (Clarke, 1987; O'Neill *et al.*, 1991).

La tolerancia a los efectos depresores iniciales de la nicotina se desarrolla rápidamente después de sucesivas administraciones de la droga, ya sea que ésta se administre varias veces al día, una vez por día o incluso con intervalos de tiempo más largos (incluso en ratas tratadas una vez por semana se nota el desarrollo de una clara tolerancia) (Clarke & Kumar, 1983a, 1983b; Clarke, 1987; Welzl *et al.*, 1990; Ksir, 1994). Paralelo al desarrollo de la tolerancia a los efectos depresores es evidente una "potenciación" de los efectos estimulantes de la nicotina, cuando ésta es administrada en dosis iguales o menores a aquella con la cual las ratas han sido pretratadas; dosis mayores producen una depresión conductual, con ataxia marcada y postración, muy similar a aquella vista en ratas no tolerantes a la nicotina cuando son retadas por primera vez. La potenciación es evidente como una respuesta incrementada en la actividad locomotora en respuesta a una misma dosis de nicotina, o, en otras palabras, la exposición crónica a la nicotina produce un incremento en la habilidad de la nicotina para estimular la conducta locomotora (Ksir *et al.*, 1987). Hasta el momento, ningún grupo ha reportado que se presente tolerancia a dichos efectos estimulantes de la nicotina, en contraparte de lo que sucede con los efectos depresores. Aún después de 23 días de abstinencia, posteriores a un tratamiento crónico diario de 50 días con nicotina, pueden encontrarse signos de tolerancia significativa residual (Clarke & Kumar, 1983a)

altas subconvulsivas (generalmente se considera óptima una dosis de 0.4 mg/kg de peso base ó 1.0 mg/kg de peso de la sal).

La nicotina, en ratas nunca antes expuestas a ella y no habituadas a las cajas de registro, tiene un efecto inicial depresor dosis dependiente, que dura aproximadamente veinte minutos, que es seguido por un efecto estimulante de la locomoción, que se expresa como una pendiente de decremento de la actividad locomotora menor que aquella de ratas inyectadas con solución salina (Clarke & Kumar 1983a; Welzt *et al.*, 1990). El decremento en la actividad locomotora es un fenómeno complejo y no todas las variables que se engloban dentro del término de "conducta locomotora" son afectadas por igual. Asimismo, existen discrepancias en la literatura en cuanto a cuáles y de qué manera son afectadas las variables. Para algunos, la nicotina parece inducir un decremento en las medidas de movimientos verticales, un incremento en el número de movimientos horizontales y un decremento en la velocidad promedio de los movimientos, sin afectar los índices de estereotipias (Jerome & Samberg, 1987; Reavill & Stoleman, 1990); mientras que otros encuentran que la distancia viajada se incrementa (junto con el número de movimientos, tiempo de movimiento y rotaciones) y los movimientos verticales se incrementan a dosis bajas y decrecientan a altas, con un incremento en la estereotipia en todas las dosis (Ksir, 1994). En ratas no tolerantes, las diferencias encontradas en las tasas de respuesta en diversos trabajos, parecen depender principalmente de la dosis, el tiempo post-inyección en el que se registra la actividad y la tasa de respuesta pre-droga. Generalmente, se observa una acción depresora de la nicotina después de la administración de una dosis alta, especialmente si las tasas de actividad del control son altas (correlacionadas con un no-acostumbramiento previo de las ratas a las cajas de registro), y puede estar acompañada por ataxia y cierto grado de postración. Por el contrario, si se administran dosis bajas o el registro de actividad es llevado a cabo después de cierto tiempo post-inyección, cuando las tasas de actividad del control son bajas, o si las ratas son acostumbradas previamente a las cajas de registro, es común ver una acción estimulante sobre la locomoción (Clarke, 1987; O'Neill *et al.*, 1991).

La tolerancia a los efectos depresores iniciales de la nicotina se desarrolla rápidamente después de sucesivas administraciones de la droga, ya sea que ésta se administre varias veces al día, una vez por día o incluso con intervalos de tiempo más largos (incluso en ratas tratadas una vez por semana se nota el desarrollo de una clara tolerancia) (Clarke & Kumar, 1983a, 1983b; Clarke, 1987; Welzt *et al.*, 1990; Ksir, 1994). Paralelo al desarrollo de la tolerancia a los efectos depresores es evidente una "potenciación" de los efectos estimulantes de la nicotina, cuando ésta es administrada en dosis iguales o menores a aquella con la cual las ratas han sido pretratadas; dosis mayores producen una depresión conductual, con ataxia marcada y postración, muy similar a aquella vista en ratas no tolerantes a la nicotina cuando son retadas por primera vez. La potenciación es evidente como una respuesta incrementada en la actividad locomotora en respuesta a una misma dosis de nicotina, o, en otras palabras, la exposición crónica a la nicotina produce un incremento en la habilidad de la nicotina para estimular la conducta locomotora (Ksir *et al.*, 1987). Hasta el momento, ningún grupo ha reportado que se presente tolerancia a dichos efectos estimulantes de la nicotina, en contraparte de lo que sucede con los efectos depresores. Aún después de 23 días de abstinencia, posteriores a un tratamiento crónico diario de 50 días con nicotina, pueden encontrarse signos de tolerancia significativa residual (Clarke & Kumar, 1983a)

El efecto estimulante de la locomoción parece ser estereoespecífico, en cuanto a que la (-) nicotina es unas cuatro veces más potente que su isómero (+), en la inducción de actividad locomotora en ratas habituadas al isómero (-) (Clarke & Kumar, 1983b).

La mecamilamina, que por sí sola no tiene efecto sobre la actividad locomotora en ratas tolerantes a la nicotina, bloquea la estimulación de la actividad locomotora inducida por nicotina de una manera lineal dosis dependiente, obteniéndose un bloqueo del 100% con una dosis de 1 mg/kg administrada 20 minutos antes de la inyección de nicotina. Ni el hexametonio, de estructura cuaternaria, ni la clorisondamina, de estructura biscuaternaria, en administración sistémica, tienen efecto sobre la conducta locomotora inducida por nicotina, probablemente porque no atraviesan o atraviesan poco la barrera hemato-encefálica (Clarke & Kumar, 1983a, 1983b). Por el contrario, la inyección intraventricular de clorisondamina bloquea en un 100%, y hasta por tres semanas, la conducta locomotora estimulada por nicotina en ratas tolerantes (Clarke & Kumar, 1983b).

## 5.2. NICOTINA Y SISTEMAS DOPAMINÉRGICOS.

Algunos autores han visto la emergencia de los efectos estimulantes de la locomoción como un fenómeno de sensibilización, tal vez por analogía con la cocaína, la *d*-anfetamina y los opiáceos. Estas drogas, en particular la *d*-anfetamina y la cocaína, parecen ejercer sus efectos estimulantes y/o adictivos a través del aumento del tono dopaminérgico dentro del sistema mesolímbico-cortical. Tanto los efectos estimulantes como los adictivos de la *d*-anfetamina parecen ser mediados a través del núcleo accumbens, con poca o ninguna contribución de las aferentes dopaminérgicas al tubérculo olfatorio o a la corteza media prefrontal (Clarke, 1990). De la misma manera, varias aproximaciones neuroanatómicas, neuro y electrofisiológicas, han apuntado a que las neuronas dopaminérgicas poseen receptores nicotínicos, que estos receptores se localizan a nivel de los cuerpos celulares y/o dendritas y en terminales axónicas, y que la nicotina, en aplicación local intracerebral o sistémica, *in vivo* e *in vitro*, es capaz de promover la liberación e inhibir la recaptura de dopamina. Es por ello que se cree que las acciones de la nicotina sobre los sistemas dopaminérgicos juegan un papel crucial en varios efectos conductuales mediados por dicha droga.

La administración bilateral intracerebral de nicotina, o del agonista nicotínico cistina, en el núcleo accumbens produce un aumento significativo en la actividad locomotora, mientras que su administración en otras áreas de terminales dopaminérgicas mesolímbicas o nigroestriatales (tubérculo olfatorio, corteza media prefrontal o caudado putámen) no tiene ningún efecto sobre la conducta locomotora (Fung, 1990; Museo & Wise, 1990). Dicha activación de la conducta locomotora, por inyecciones intra-accumbens de altas dosis de nicotina, parece aparecer después de un breve período inicial de depresión de la conducta locomotora en ratas no tolerantes a la nicotina (Welzl *et al*, 1990). La inyección de nicotina en el área ventro tegmental parece, sin embargo, producir una activación locomotora más pronunciada de lo que lo hace en el núcleo accumbens (Reavill & Stolerman, 1990; Leikola-Pelto & Jackson, 1992; Nisell *et al*, 1994; Museo & Wise, 1995). Tanto la inducción de actividad locomotora por inyecciones en el núcleo accumbens, como en el área ventro tegmental, es mediada por un sistema sensible a antagonistas nicotínicos, puesto que el pretratamiento con mecamilamina, administrada sistémicamente, previene este aumento en la conducta locomotora inducido por nicotina (Fung, 1990).

Estos incrementos en la actividad locomotora inducidos por administraciones centrales locales de nicotina parecen correlacionarse con la capacidad de la nicotina de afectar la actividad de neuronas dopaminérgicas. En ratas paralizadas (con *d*-tubocurarina), y con anestesia local, una inyección intravenosa de una dosis baja de nicotina es capaz de hacer que las neuronas de la sustancia nigra pars compacta aumenten su actividad eléctrica hasta en un 30 % y que las neuronas del área ventrotectal lo hagan hasta en un 75%. Estos incrementos son completamente prevenidos con un pretratamiento de una dosis estándar de mecamilamina (Merret *et al.*, 1987).

Tanto el área ventrotectal como la sustancia nigra pars compacta (que contienen, respectivamente, los cuerpos celulares de las neuronas dopaminérgicas de los tractos mesolímbico y nigroestriatal) presentan un denso marcaje con nicotina tritiada. Animales lesionados unilateralmente con 6-hidroxidopamina a nivel del haz medial del cerebro anterior, presentan una disminución ipsilateral en el marcaje con nicotina tritiada tanto a nivel del estriado y de la sustancia nigra, como dentro de todo el sistema mesolímbico. El grado de pérdida del marcaje en el estriado está directamente relacionado con el grado de depleción dopaminérgica estriatal. Estos datos parecen indicar que las neuronas dopaminérgicas de los sistemas nigroestriatales y mesolímbicos son activadas por nicotina y acetilcolina que actúa tanto a nivel de los cuerpos celulares como de las terminales (Clarke & Pert, 1985).

Varias líneas de investigación han apuntado a que la estimulación de los receptores nicotínicos promueve la liberación de dopamina tanto *in vitro* como *in vivo*. Se ha demostrado que la nicotina inhibe potentemente la captura de dopamina tritiada en rebanadas de estriado y que incrementa la liberación de dopamina tritiada precargada en rebanadas de la misma estructura, siendo mucho más potente como inhibidor de la recaptura. Sin embargo, a pesar de que es un potente inhibidor de la recaptura, inhibe únicamente alrededor del 50 % de la recaptura total. Otros inhibidores de la recaptura de dopamina, como la cocaína, el metilfenidato, el GBR 12909 y el ácido amfónico son mucho más potentes y llegan a inhibir cerca del 100% de la recaptura. Estos compuestos también inhiben la unión de [<sup>3</sup>H]GBR 12935, un inhibidor selectivo de la recaptura de dopamina, con el mismo orden de potencia con el que inhiben la recaptura de dopamina. La nicotina parecería actuar a través de otro mecanismo puesto que, a dosis que inhiben la recaptura de dopamina tritiada, no compite con la unión de [<sup>3</sup>H]GBR 12935. El hecho de que, al igual que la nicotina, el carbacol y el DMPP también inhiban la recaptura de dopamina tritiada y que antagonistas nicotínicos como la mecamilamina bloqueen el efecto de la nicotina, sugiere que el efecto sobre la recaptura de dopamina que tiene la nicotina es mediado por un receptor con un sitio de unión a ligando con selectividad similar al receptor a acetilcolina (Izenwasser *et al.*, 1991). Otros datos que apoyan esta última hipótesis son aquellos concernientes a que la nicotina continúa promoviendo la liberación de dopamina tritiada en presencia de tetrodotoxina y que es también capaz de inducir liberación de dopamina recién sintetizada en el núcleo accumbens de una manera casi completamente calcio-dependiente (Clarke, 1990).

Mediciones post-mortem del efecto de la nicotina sobre el metabolismo dopaminérgico han indicado que la nicotina, en altas dosis sub-convulsivas, es capaz de producir una reducción significativa de los almacenes dopaminérgicos en el caudado medio y en el sistema dopaminérgico terminal difuso de la parte anterior del núcleo accumbens. A dosis más bajas estimula preferentemente el metabolismo dopaminérgico del núcleo accumbens (Anderson *et al.*, 1981; Lapin *et al.*, 1989).

En trabajos en los que se ha evaluado la capacidad de la nicotina para inducir *in vivo* un cambio en el metabolismo dopaminérgico, a través de la técnica de microdialísis, se ha visto que, una administración sistémica aguda de una dosis alta de nicotina en ratas no tolerantes, es capaz de incrementar la liberación de dopamina en el núcleo accumbens en cerca de un 100 %, y en el caudado dorsal en un 50 %, y de incrementar los niveles de DOPAC y HVA en el primero (Imperato *et al.*, 1986); el pretratamiento con mecamilamina, pero no con hexametonio, inhibe la alteración en el metabolismo dopaminérgico inducida por nicotina. Otros grupos han reportado que, con dosis más bajas (0.4 vs 0.6 mg/kg), el incremento aparente en los niveles extracelulares de dopamina observados no es significativa en ratas no tolerantes. Sin embargo sí observan un incremento significativo en las concentraciones de DOPAC y HVA en el núcleo accumbens, lo cual apoya la hipótesis de que una dosis de nicotina aguda afecta significativamente al metabolismo dopaminérgico mesolímbico (Benwell & Balfour, 1992). El aumento en la liberación de dopamina en el núcleo accumbens, inducido por nicotina, puede ser bloqueado por una infusión local de mecamilamina en el área ventro- tegmental, mientras que la infusión de mecamilamina en el núcleo accumbens no afecta significativamente la respuesta dopaminérgica a la administración de nicotina sistémica (Nisell *et al.*, 1994), lo que podría estar indicando que los receptores nicotínicos somatodendríticos pueden tener una mayor importancia que aquellos localizados en el área terminal, en la mediación de la activación del sistema dopaminérgico mesolímbico inducida por nicotina. Más aún, la infusión de nicotina en el área ventro- tegmental causa un incremento significativo de la concentración extracelular de dopamina y sus metabolitos en el núcleo accumbens ipsilateral (Yoshida *et al.*, 1993; Nisell *et al.*, 1994). La administración de nicotina en el núcleo accumbens también causa un incremento en la liberación de dopamina *in situ*, pero ésta, en contraste, es de muy corta duración, y daría idea de que los receptores localizados en el área ventro- tegmental tienen una tasa de desensibilización más baja que aquellos localizados en el núcleo accumbens (Mifsud *et al.*, 1989; Nisell *et al.*, 1994).

En cuanto a cuáles son los receptores dopaminérgicos cuya activación se encuentra relacionada con la inducción de actividad locomotora, existe discrepancia en la opinión de los autores. En ratas no tolerantes, se ha reportado que, tanto antagonistas selectivos a receptores dopaminérgicos tipo D1 (SCH 23390) como a D2 (raclopride) como antagonistas no selectivos (flufenaxina), atenúan o bloquean la conducta locomotora inducida por nicotina en dosis que *per se* no afectan significativamente la actividad locomotora espontánea. Por otra parte, agonistas a D1 (SKF 38393) no tienen ningún efecto sobre la actividad locomotora espontánea, ni sobre aquella inducida por nicotina; mientras que, agonistas a D2 (PF10), que tienen un efecto estimulante dosis-dependiente de la locomoción *per se*, tienen efectos aditivos a los de la nicotina cuando ambas drogas son administradas conjuntamente (O'Neill *et al.*, 1991). Se ha demostrado que, aunque los agonistas selectivos a receptores de tipo D1 no producen el espectro completo de actividad conductual observada con agonistas dopaminérgicos no selectivos, la estimulación de dicho receptor es aún requerida para la expresión completa de las conductas estereotipadas mediadas por dopamina y la excitación conductual que ésta genera. Por lo tanto no resultaría sorprendente que el bloqueo de dichos receptores resulte en una disminución de la activación locomotora mientras que su estimulación no incrementa significativamente la misma.

Ratas tratadas crónicamente con nicotina por 14 días, parecen mostrarse más res- ponsivas frente a un reto con agonistas dopaminérgicos no selectivos (apomorfina y anfeta-

mina), medido como incremento en la actividad locomotora e índices de comportamientos estereotipados (Suenam *et al.*, 1993). Según los autores, la hiper-responsividad de las ratas tratadas con nicotina podría deberse a un incremento en el número de receptores dopaminérgicos.

En ratones no tolerantes se ha reportado que los agonistas selectivos a D1 bloquean la hiperactividad inducida por bajas dosis de nicotina, mientras que el pretratamiento con un antagonista selectivo a D2 (sulpiride) no tiene ningún efecto sobre ésta (Damaj & Marun, 1993). Por otra parte, ratones con tratamiento crónico de altas dosis de nicotina, se muestran hiper-responsivos a un reto con bajas dosis de aponorfina, a tal punto que, dosis de aponorfina que, en ratones control producen hipomotilidad, en ratones tratados con nicotina, producen hiperomotilidad (Sershen *et al.*, 1991).

Se ha demostrado que rebandas de estriado de ratones tratados crónicamente con inyecciones de nicotina por ocho días, muestran un aumento de  $\approx 25\%$  en el marcaje radioactivo con agonistas trititados a receptores dopaminérgicos tipo D1 ( $[^3\text{H}]\text{-SCH 23390}$ ), cambios que "podrían significar tanto un cambio en la  $K_D$  como en la  $B_{\text{max}}$ ", sin que se presenten cambios en el marcaje con agonistas trititados a receptores dopaminérgicos de tipo D2; dichos cambios no pueden ser atribuidos a un decremento en el contenido de dopamina estriatal, puesto que la denervación dopaminérgica (por administración central de MPTP), que reduce hasta en un 80% los niveles de dopamina estriatales, no tiene efecto sobre el marcaje con agonistas a receptores dopaminérgicos de tipo D1 (Wiener *et al.*, 1989).

Por último, en experimentos en los que se entrena a las ratas a discriminar una inyección de nicotina de una inyección de solución salina intravenosa, solamente tres drogas no nicotínicas han producido grados substanciales de respuesta similar a la nicotina: la anfetamina, la aponorfina y el SKF 39393. A pesar de que las tasas de respuesta con estas drogas sólo han alcanzado entre el 50 al 70% de aquella observada con agonistas nicotínicos directos, difieren claramente de la insensibilidad total a otras drogas no nicotínicas. De las drogas antes mencionadas, la única acción que comparten es la estimulación de receptores dopaminérgicos de tipo D1. Más aún, neurolépticos como el SCH 23390 (antagonista específico a D1) y el haloperidol (inespecífico) debilitan significativamente las tasas de respuesta en pruebas de discriminación a nicotina. En contraste, el pimozide y el droperidol, dos neurolépticos con selectividad a D2, no afectan significativamente las tasas de respuesta (Stolerman & Reavill, 1989).

De cualquier manera, parece quedar claro que el sistema dopaminérgico, si bien no es el único afectado por una administración sistémica de nicotina, no sólo es afectado, sino que juega un papel crucial en la expresión de muchos de los comportamientos inducidos por ésta. Además, resulta evidente que, de alguna manera, el tratamiento crónico con nicotina afecta o modifica las características del sistema dopaminérgico. El cuadro que emerge como más probable es el siguiente: las neuronas dopaminérgicas de los sistemas nigroestriatal y mesolímbico-cortical poseen receptores colinérgicos nicotínicos tanto a nivel del soma y/o dendritas, como en sus terminales axónicas; la estimulación directa de estos receptores excita a dichas neuronas e induce la liberación de dopamina; a pesar de que ambos sistemas son responsivos a la nicotina, las neuronas del área ventrotégmental parecen responder más que aquellas localizadas en la sustancia nigra pars compacta, lo cual se ve reflejado en una mayor liberación de dopamina en el núcleo accumbens que en el caudado-putamen, en respuesta a una administración sistémica de nicotina; a pesar de que, como se mencionó, las neuronas

del área ventro tegmental tienen receptores nicotínicos tanto a nivel de los cuerpos celulares y/o dendritas como a nivel de las terminales, y que la estimulación de cualquier población induce la liberación de dopamina, una estimulación de los receptores somato-dendríticos produce efectos, sobre el metabolismo dopaminérgico, de mayor magnitud y duración que aquellos producidos por estimulación de los receptores axónicos, aunque es a éste último nivel que se lleva a cabo el efecto inhibitorio de la recaptura.

### 5.3. OTROS SITIOS DE ACCIÓN DE LA NICOTINA.

Se ha postulado que los efectos depresores de la nicotina podrían deberse a la acción de ésta sobre otro sistema además del dopaminérgico. Se ha demostrado que una estimulación colinérgica incrementa la liberación de GABA en el estriado ventral de ratas anestesiadas. La estimulación de los receptores a GABA en el núcleo accumbens induce hipoactividad y bloquea la hiperactividad inducida por inyecciones sistémicas de amfetamina (Damañ & Martín, 1993). Asimismo, en el sistema nervioso central se ha encontrado que, la estimulación de receptores nicotínicos, aumenta la liberación de acetilcolina de la corteza y de noradrenalina y serotonina en el hipocampo y, en rebanadas de estriado disecado de ratas pretratadas con dos inyecciones intraventriculares de 6-hidroxidopamina o en presencia de un antagonista al receptor dopaminérgico de tipo D2, la nicotina aumenta la liberación de acetilcolina basal y aquella por estimulación con campo eléctrico (con lo que se reafirman dos conocimientos: que la liberación de acetilcolina está bajo control tónico de dopamina endógena, y que la liberación espontánea de dopamina es incrementada por nicotina) (Sandor *et al*, 1991). También se ha encontrado que la nicotina induce rápidos y grandes decrementos en los niveles de sustancia P tanto en el caudado-putamen como en el núcleo accumbens (Lapin *et al*, 1989).

### 5.4. CONSECUENCIAS DEL TRATAMIENTO CRÓNICO CON NICOTINA.

Junto con el desarrollo de la tolerancia a los efectos depresores de la nicotina y la aparición de una respuesta conductual aumentada con un tratamiento de inyecciones repetidas de nicotina, ocurren, paralelamente alteraciones neurofisiológicas importantes.

Una exposición prolongada a acetilcolina (por administración de dihidropropil fluo-rofosfato - DFP-, el cual bloquea la actividad de la enzima acetilcolinesterasa en un 85%) por diez días, decreta el número de sitios de unión de acetilcolina tritiada en presencia de atropina, esto es, decreta la  $B_{max}$  de receptores colinérgicos nicotínicos en la corteza cerebral en, aproximadamente, un 23% sin que existan cambios en la afinidad aparente de dichos sitios de unión. Esta regulación-hacia-abajo de receptores nicotínicos refleja un proceso similar al que sufren los receptores muscarínicos después del mismo tratamiento y parece ser una respuesta a una sobre-estimulación prolongada del receptor por acetilcolina. Paradójicamente, la administración de altas dosis de nicotina (0.8 mg/kg de peso base dos veces al día, por 10 días), aumenta el marcaje, con acetilcolina tritiada en presencia de un exceso de atropina, en la corteza cerebral en un 25%, incremento que se debe únicamente a una elevación de la densidad de sitios de unión nicotínicos, sin que los sitios de unión muscarínicos se vean alterados con el tratamiento con nicotina (Schwartz & Kellar, 1983).

No ha podido establecerse si existe una correlación directa bioquímico-anatómica entre el desarrollo de la tolerancia a la nicotina y los cambios en el número de receptores nicotínicos en respuesta a una exposición repetida a la droga. La aparición de la tolerancia, a los efectos depresores de la conducta locomotora e hipotérmicos evocados por altas dosis de nicotina, parece correlacionarse temporalmente con un aumento en el número de sitios de unión de nicotina tritiada en la corteza, hipocampo, cerebro medio, caudado-putamen e hipotálamo. Después de un período de abstinencia, posterior a un tratamiento crónico prolongado, de siete días se encuentran aún señales de tolerancia residual, sin embargo, para este momento, el número de receptores nicotínicos ya ha regresado a niveles control en todas las zonas (con excepción de la corteza cerebral), con una vida media para la recuperación de, aproximadamente, cuatro días. Tampoco durante el período de recuperación se observan cambios en la afinidad aparente de los receptores. Por lo tanto, no es posible atribuir este fenómeno (de aumento en la concentración de receptores post-tratamiento crónico con nicotina) la responsabilidad total en el desarrollo de la tolerancia (Collins *et al*, 1988).

Se sabe desde hace mucho que los colinoceptores nicotínicos periféricos, especialmente aquellos presentes en los ganglios autónomos, son susceptibles a un bloqueo por despolarización después de una exposición prolongada a la nicotina. Se le ha atribuido a este fenómeno la responsabilidad de la tolerancia aguda, que se desarrolla hacia algunos efectos de la nicotina, durante períodos de continua exposición. También ha sido propuesto que, al bloquear funcionalmente a sus propios receptores, el tratamiento crónico con nicotina, conlleve, así, a una regulación-hacia-arriba, en el número de receptores, compensatoria (Caggula *et al*, 1993; El Bizri & Clarke, 1994; Benwell *et al*, 1995). Se ha observado que, en ratas habituadas a la nicotina por seis días, una administración de una dosis de nicotina produce un incremento inicial en la conducta locomotora que es seguido después de un antagonismo secundario a inyecciones subsecuentes, tal vez reflejando un comportamiento de los receptores nicotínicos centrales análogo al del comportamiento de aquellos localizados en sinápsis nicotínicas periféricas. Dicho antagonismo secundario parecería coincidir con la presencia continua de nicotina en el cerebro puesto que el tiempo de inhibición con respecto a la dosis administrada es directamente proporcional a la vida media de la nicotina en el cerebro de la rata (noventa minutos) (Hakan & Ksir, 1991). Sin embargo, la regulación-hacia-arriba de los colinoceptores nicotínicos que se observa después de exposiciones repetidas, parece no depender únicamente del bloqueo funcional del receptor, puesto que el tratamiento con clorisdamina (que bloquea el ionóforo del receptor-canal de manera cuasi-irreversible), administrada centralmente, es incapaz de alterar la densidad o la afinidad de dichos sitios de unión a nicotina tritiada, a pesar de que sí bloquea la aparición de las conductas inducidas por una administración sistémica de nicotina. Además, el pre-tratamiento con clorisdamina no afecta la regulación-hacia-arriba inducida por un tratamiento crónico con nicotina. Estos datos sugieren que, el bloqueo de los receptores nicotínicos no es un estímulo suficiente como para afectar la regulación de dicha población de receptores colinérgicos y que ésta puede, quizás, depender también de la ocupación del sitio de unión a agonistas (El Bizri & Clarke, 1994).

En cuanto a las consecuencias que tiene la exposición repetida a la nicotina sobre su habilidad para inducir la liberación de dopamina, existen enormes discrepancias en la literatura. Algunos autores, basándose en el análisis de los contenidos de dopamina y sus metabolitos en el caudado putamen y núcleo accumbens *post-mortem*, sostienen que la administración repetida de nicotina (0.8 mg/kg peso base por diez días) atenúa el efecto que tiene la

administración aguda de nicotina sobre el metabolismo dopaminérgico y decremента la liberación de dopamina en respuesta a ésta (Lapin *et al.*, 1989). Por el contrario, otros autores, utilizando microdialísis *in vivo*, encuentran que la administración subcrónica de la droga (0.4 mg/kg peso base por cinco días) da como resultado un aumento substancial en la respuesta dopaminérgica frente al reto con nicotina, acompañada de niveles basales incrementados de dopamina antes de la inyección (Benwell & Balfour, 1992). Los primeros interpretan sus resultados, poco concordantes con la falta de tolerancia a los efectos estimulantes de la nicotina o con el marcaje nicotínico aumentado en el caudado putamen después de una administración crónica de nicotina, como que una reducción en el metabolismo dopaminérgico sostenida podría contribuir a una regulación-hacia-arriba de receptores dopaminérgicos, lo cual podría contrabalancear la acción de la nicotina en dosis repetidas, de manera que las respuestas locomotoras no se vean disminuidas. Para los segundos, el sistema dopaminérgico mesolímbico no desarrolla tolerancia a la nicotina sino que, por el contrario, podría ser sensibilizado después de la exposición repetida al alcaloide.

No está claro hasta qué punto la tolerancia, que se desarrolla frente a los efectos depresores de la nicotina, puede deberse a una conducta aprendida (tolerancia condicionada). Se ha demostrado que, en algunos casos, cuando se desarrolla tolerancia a algunos de los efectos de la nicotina (elevación en los niveles de corticosterona, efectos analgésicos o anoréxicos) en presencia de características ambientales específicas, la administración de la misma droga en ausencia de dichas características reinstala total o parcialmente la respuesta original a la droga, esto es, disrumpe la expresión de la tolerancia (Caggiula *et al.*, 1993). Estos resultados indicarían que el desarrollo de la tolerancia depende, al menos en parte, de asociaciones aprendidas con características ambientales que señalan repetidamente el momento de administración de la droga. En muchos casos, la tolerancia crónica a la droga consiste de un componente "asociativo" (o dependiente del ambiente) y de un componente "no asociativo" (esto es, cambios neurofarmacológicos que resultan de la exposición a la droga *per se*). Se han propuesto muchas teorías en cuanto al mecanismo de tolerancia asociativa a la droga. Una, basada en el condicionamiento clásico pavloviano, postula que la tolerancia condicionada involucra el establecimiento de una respuesta compensatoria, contexto-específica y condicionada que anticipa la administración de la droga y antagoniza a la respuesta no-condicionada a la droga. Esto último ha sido sugerido en base a los hallazgos de que, en ratones tratados crónicamente con nicotina, se encuentran niveles elevados de corticosterona pre-inyección que acompañan al desarrollo de la tolerancia a la administración de nicotina. Además, se ha encontrado que la respuesta a corticosterona endógena a por lo menos algunos estímulos puede ser condicionada, que la corticosterona tiene amplios efectos regulatorios sobre muchos sistemas fisiológicos, que la corticosterona exógena administrada crónicamente reduce varios efectos fisiológicos de la nicotina en el ratón y que la administración aguda de corticosterona, o una manipulación estresante que estimule la liberación endógena, son capaces de reducir la respuesta analgésica a nicotina (Caggiula *et al.*, 1993). Según estos datos, la hipótesis emergente sería que las características ambientales que anticipan la administración de nicotina evocan la liberación condicionada de hormonas hipotálamo-pituitario-adrenocorticales, específicamente de corticotropina, la cual reduciría la responsividad del animal a la nicotina.

El eje hipotálamo-pituitaria-adrenal parece no tener únicamente importancia en el desarrollo de la tolerancia a los efectos depresores de la droga. Una cantidad creciente de

datos lo involucran en los fenómenos de sensibilización, y la anfetamina, la cocaína y la nicotina son todos estimulantes de este eje. Tanto el estrés como la anfetamina pueden ser intercambiables en su habilidad para producir sensibilización, y la sensibilización a morfina y anfetamina inducida por estrés es prevenida en animales en los cuales la liberación de corticosterona inducida por estrés es prevenida. Más aún, la administración repetida de corticosterona, o la implantación de pastillas que liberan corticosterona en niveles similares a aquellos producidos por estrés crónico, causa la sensibilización a los efectos estimulantes de la locomoción de la anfetamina. Además, la adrenalectomía previene la sensibilización conductual a anfetamina, a menos que los animales sean tratados con el agonista a receptor de glucocorticoides tipo II, dexametasona. También ha sido demostrado que el bloqueo del eje hipotalámico-pituitaria-adrenal a través del pretratamiento con antisuero contra el factor liberador de corticotropina atenúa la sensibilización inducida por anfetamina. La adrenalectomía previene la sensibilización a los efectos estimulantes de la nicotina sobre la locomoción; sin embargo, la adrenalectomía, no modifica los efectos estimulantes de la locomoción aguda de la nicotina. La prevención de la sensibilización por adrenalectomía es abolida por el tratamiento de remplazo con corticosterona o dexametasona, ambos agonistas al receptor glucocorticoideo (tipo II) pero no al mineralocorticoideo (tipo I). La inyección aguda de corticosterona a animales adrenalectomizados tratados diariamente con nicotina por 10 o 30 días no cambia la actividad locomotora observada después de un reto con nicotina, lo cual debilita la posibilidad de que la activación aguda del receptor por la corticosterona sea requerida para la expresión del fenómeno de sensibilización y sugiere, en lugar, un papel inductivo de los glucocorticoides en la sensibilización a nicotina, posiblemente a través de acciones genómicas. Esta visión es sostenida aún más por el hecho de que la adrenalectomía no tiene efecto sobre la actividad locomotora inducida por nicotina en ratas ya sensibilizadas, lo cual muestra que, una vez que se ha establecido la sensibilización, la presencia de los glucocorticoides no es requerida para la expresión del fenómeno. La administración aguda de nicotina a animales que han sido tratados repetidamente con nicotina eleva el cociente DOPAC/dopamina y los niveles de HVA en el sistema límbico pero no en el estriado ni en la corteza. En ratas con adrenalectomía y tratadas repetidamente con nicotina, el metabolismo dopaminérgico es de igual o mayor magnitud que aquel de animales con falsa operación y tratados con nicotina. Así, la adrenalectomía, aumenta más que contractuar las consecuencias neuroquímicas del tratamiento crónico con nicotina. Ya que las expresiones conductuales de la adrenalectomía fueron bastante opuestas, estos descubrimientos indican que la parte dependiente de esteroides del fenómeno de sensibilización no está relacionado a las medidas de actividad dopaminérgica presináptica. Se ha demostrado previamente que la adrenalectomía reduce el número de receptores dopaminérgicos D1 y D2 en la mayor parte de las regiones cerebrales, un efecto que es revertido, y, en el caso de los receptores D1, incluso potenciado por el tratamiento crónico con dexametasona. Así, una explicación a la prevención de la sensibilización a nicotina causada por adrenalectomía puede ser que la remoción de las glándulas adrenales disrumpe una regulación-hacia-arriba tentativa inducida por nicotina de la función dopaminérgica post-sináptica (Johnson *et al.*, 1995).

No se tratarán en esta tesis aquellos trabajos en los cuales, en lugar de un tratamiento crónico por inyecciones diarias de nicotina, se emplean minibombas osmóticas de liberación constante de nicotina.

## OBJETIVOS

1. Observar los efectos que tienen la privación de sueño MOR, la nicotina y la *d*-anfetamina sobre la conducta locomotora de las ratas.
2. Determinar si la privación de sueño MOR tiene un efecto sinérgico sobre el incremento en la actividad locomotora inducida por nicotina y *d*-anfetamina.

## HIPÓTESIS

La conducta locomotora en ratas es mediada a través de la liberación de dopamina de las terminales dopaminérgicas mesolímbicas. Si la privación de sueño MOR induce un estado de hipersensibilidad dopaminérgica, y la nicotina estimula la conducta locomotora a través de la inducción de la liberación y bloqueo parcial de la recaptura de la dopamina, entonces deberíamos encontrar un mayor incremento en la actividad locomotora de animales privados de sueño MOR que en la de animales no manipulados, frente a la administración de una misma dosis de nicotina.

Por el mismo razonamiento, en ratas privadas de sueño MOR debe verse una hipersensibilidad ante una administración del agonista dopaminérgico indirecto *d*-anfetamina, que debería reflejarse en una actividad locomotora mayor, que en ratas no manipuladas, después de la administración sistémica de dicha droga.

# MATERIALES, MÉTODOS Y RESULTADOS

## 1. MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES.

En todos los experimentos se utilizaron ratas macho, adultas, de la cepa *Wistar*, de la colonia del bioterio de la Facultad de Medicina de la U.N.A.M., mantenidas en un ciclo constante luz-oscuridad (12:12 horas), con iluminación de las 0700 a las 1900 horas y con continuo acceso a comida y agua.

Los registros de actividad locomotora fueron realizados en un cuarto sonoamortiguado con un sistema de registro y almacenamiento automáticos, cuya salida, conectada a una computadora, daba el número de veces, en diez minutos, que era interrumpido uno de los cuatro haces de luz infrarroja conectados en paralelo a cada uno de los lados más largos de cada una de las cajas de registro de actividad. Cada caja de registro, de acrílico translúcido, mide 24 cm de ancho, 33.5 cm de profundidad y 17 cm de alto, con los cuatro fotoseensores, localizados a lo largo del lado más largo, espaciados por cuatro centímetros entre sí. Las cajas proporcionaban, a las ratas, continuo acceso a comida y agua. Ocho de estas cajas se encontraban conectadas en paralelo, de manera que la salida del sistema en la computadora consistía en un archivo de texto con una matriz de 8 x (minutos de registro / 10). El sistema fue construido en el CINVESTAV.

La privación de sueño MOR se realizó por el método de la plataforma, descrito en la introducción (con plataformas de 6.5 centímetros de diámetro), utilizando tres plataformas por contenedor. Los animales tuvieron acceso a comida y agua *ad libitum* durante todo el tiempo de privación y se les dejó descansar una hora por día en sus cajas, cuidando que no se durmieran, mientras se hacía la limpieza de los contenedores.

Los datos fueron tratados de manera que obtuviéramos el promedio, por grupo, de la actividad locomotora total desplegada por animal en periodos de veinte minutos. Las comparaciones estadísticas entre los grupos fueron hechas con pruebas de *t* de *student* para grupos no apareados con valores de probabilidad para 2 colas. En todas las gráficas presentadas se representa la media  $\pm$  error estándar (error típico de la media).

Drogas utilizadas:

- Nicotina (*nicotine, hydrogen tartate salt, Sigma Chemical Co.*) disuelta en solución salina, en dosis de 1 mg/kg SC (dosis expresadas en peso de la sal, 1 mg sal  $\approx$  0.35 mg base).
- Mecamilanina (*mecamylamine, hydrochloride, R.B.I.*) disuelta en solución salina, en dosis de 1 mg/kg SC.
- Haloperidol (*Haldol, Janssen*, solución inyectable con 5 mg/ml) en dosis de 1 mg/kg IP.
- *d*-Anfetamina (*d-amphetamine, sulphate, Sigma Chemical Co.*) disuelta en solución salina, en dosis de 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 mg /kg IP.

Todas las drogas, con excepción del haloperidol, fueron administradas en un volumen equivalente a 1 ml/kg. Los controles recibieron el mismo volumen de solución salina en la vía de administración correspondiente.

En todas las gráficas presentadas se encuentran graficados los promedios de los números de cuentas acumuladas, en períodos de veinte minutos, para cada grupo durante cuatro horas (los puntos corresponden al valor de la media y las barras verticales al error estándar; sólo se han graficado las barras hacia alguno de los dos lados para evitar superposiciones). Entre aquellos pares de valores con diferencias estadísticamente significativas se representan los valores de probabilidad, según la *t* de student.

## **2. EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE NICOTINA SOBRE LA ACTIVIDAD LOCOMOTORA.**

### **2.1. EXPERIMENTO I: INDUCCIÓN DE CONDUCTA LOCOMOTORA POR ADMINISTRACIÓN DE NICOTINA EN RATAS NUNCA EXPUESTAS A ÉSTA.**

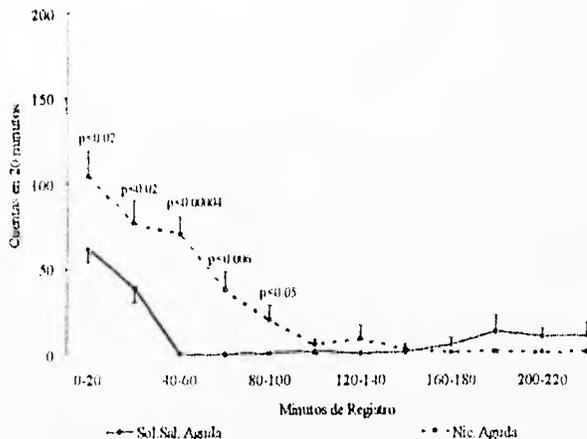
Lo primero que debíamos constatar era que nuestro equipo de registro fuese sensible al paradigma operante sobre la inducción de actividad locomotora por nicotina. Como lo que nos interesaba era poder observar, indirectamente a través de la conducta locomotora, los efectos estimulantes, y no los depresores, de la nicotina, el modelo empleado contemplaba tres horas de adaptación a las cajas de registro de actividad, antes de la inyección de nicotina; ésto destinado a tener valores de actividad locomotora basales bajos, para que el efecto estimulante no quedase enmascarado por la conducta exploratoria normal que despliega una rata cuando es introducida a un ambiente nuevo.

#### **2.1.1. MATERIALES Y MÉTODOS:**

Veinticuatro ratas de  $262.5 \pm 22.7$  gramos (media  $\pm$  desviación estándar) fueron divididas en dos grupos. El primero de ellos recibió 1 ml/kg de solución salina y el otro 1 mg/kg de nicotina, ambos en vía de administración subcutánea, posteriores a tres horas de adaptación a las cajas de registro de actividad. Después de la inyección, la actividad locomotora fue registrada durante las siguientes cuatro horas (1100 a 1500 horas).

#### **2.1.2. RESULTADOS:**

La nicotina incrementó significativamente la actividad locomotora, por aproximadamente una hora y media, de ratas nunca antes expuestas a la droga y acostumbradas previamente por 3 horas a las cajas de registro de actividad (figura 1).



**Figura 1.** Actividad locomotora de ratas nunca antes expuestas a la nicotina frente a una administración aguda de ésta (Nic. Aguda), comparada con aquella producto de la administración del vehículo (Sol. Sal. Aguda).

### 2.1.3. DISCUSIÓN:

La estimulación de la actividad locomotora por nicotina, en dosis de 1 mg/kg (SC, peso de la sal), en ratas no tolerantes a la droga ha sido extensamente reportada en la literatura (Clarke, 1987; O'Neill *et al*, 1991). Dicha inducción se ve como un aumento significativo en la conducta locomotora cuando la droga es administrada a ratas acostumbradas a sus cajas de registro. Cuando no es éste el caso, esto es, cuando las ratas no son acostumbradas a las cajas de registro, suele observarse un efecto depresor inicial dosis-dependiente (Clarke & Kumar, 1983a; Weizl *et al*, 1990). Las discrepancias en los resultados de ambos modelos han sido atribuidos, en la literatura (Clarke, 1987), a los niveles de actividad locomotora desplegados por el grupo control: ratas control acostumbradas a las cajas de registro muestran una actividad locomotora baja, mientras que ratas no acostumbradas muestran una alta tasa de actividad locomotora, correlacionada con conducta exploratoria inducida por un medio nuevo.

Aunque la nicotina indujo, en nuestro modelo, un incremento significativo de la actividad locomotora, por observaciones cualitativas personales, la conducta locomotora desplegada, por las ratas que habían recibido nicotina, parecía consistir en una sucesión de movimientos involuntarios estereotipados, al mismo tiempo que presentaban ligera catalepsia, o sea, ligero grado de postración, extensión de las extremidades alejándose del cuerpo, exposición de la región abdominal al piso y movimientos bruscos y desordenados, de apariencia involuntaria. Esta sintomatología conductual está de acuerdo con aquella descrita en la literatura para la administración de nicotina a animales nunca antes expuestos a ésta (Clarke & Kumar, 1983a; Clarke, 1987; Weizl *et al*, 1990), y fue desapareciendo, pasados tres a cinco minutos de su inicio, para dar paso a una actividad general estimulada.

## **2.2. EXPERIMENTO II: INDUCCIÓN DE CONDUCTA LOCOMOTORA EN RATAS TRATADAS CRÓNICAMENTE CON NICOTINA.**

El segundo paradigma que debíamos constatar era aquel relacionado al desarrollo de tolerancia a los efectos depresores de la nicotina, aunado al fenómeno de sensibilización a los efectos estimulantes de la misma, después de un tratamiento crónico por inyecciones diarias individuales de una misma dosis.

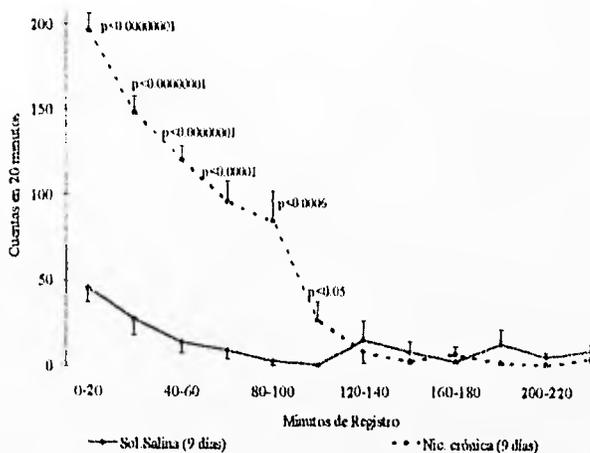
### **2.2.1. MATERIALES Y MÉTODOS:**

Después del experimento I, el grupo de ratas a las que se les administró nicotina, fue tratado crónicamente con una inyección diaria de nicotina (1 mg/kg, SC, entre 1000 y 1200 horas) durante los siguientes ocho días. Al noveno, la actividad locomotora fue evaluada después de una inyección de la misma dosis de nicotina posterior a tres horas de adaptación a las cajas de registro. El grupo control recibió solución salina en todas las ocasiones y con la misma calendarización y también fue evaluado después de una inyección con solución salina al noveno día. Después de la inyección, la actividad locomotora fue registrada durante las siguientes cuatro horas (1100 a 1500 horas) en ambos grupos.

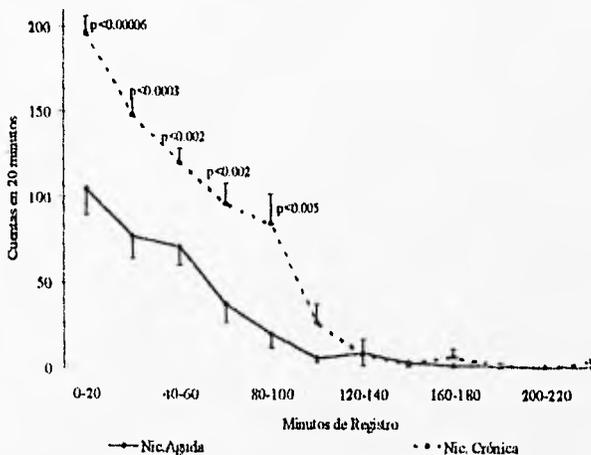
### **2.2.2. RESULTADOS:**

El tratamiento diario durante 9 días con 1 mg/kg de nicotina, peso de la sal (equivalente a, aproximadamente, 0.4 mg/kg en peso de la base), incrementó la magnitud de la respuesta locomotora frente a la administración de la misma dosis de nicotina.

La diferencia entre la actividad locomotora inducida por nicotina y aquella que es efecto de la pura manipulación (el sacarlas de la caja de registro de actividad, inyectarlas y volverlas a meter) se hace mucho mayor después de un tratamiento crónico (figura 2). Cuantitativamente (figura 3), la cantidad de desplazamientos post-inyección con nicotina es mucho mayor en ratas tratadas crónicamente que aquellos de las mismas ratas, frente a la administración de la primera inyección de nicotina.



**Figura 2.** Actividad locomotora de ratas tratadas por nueve días con inyecciones diarias de nicotina, en respuesta a una administración de ésta (Nic. crónica), comparada con aquella desplegada por ratas tratadas y evaluadas con solución salina (Sol. Salina).



**Figura 3.** Comparación de la actividad locomotora inducida por nicotina en ratas tratadas crónicamente por nueve días con ésta (Nic. Crónica) y en ratas nunca antes expuestas a la misma (Nic. Aguda).

### 2.2.3. DISCUSIÓN:

En el momento del primer registro de actividad locomotora, el grupo de ratas que recibió nicotina (en el experimento 1) pesaba significativamente más que el grupo que recibió solución salina:  $276 \pm 18.23$  gramos de promedio para el grupo que recibió nicotina *versus* 249

$\pm 18.49$  para el grupo que recibió solución salina ( $p < 0.002$ ). Lo anterior puede atribuirse a que, aunque los animales fueron designados aleatoriamente a los grupos a partir de un conjunto homogéneo de animales, y fueron mantenidos antes del registro de actividad, bajo las mismas condiciones, pasaron cuatro días entre el registro de actividad de las ratas que recibieron solución salina y el de las que recibieron nicotina, por problemas de calendarización en el uso del número limitado de cámaras de registro. Sin embargo, después de nueve días de tratamiento crónico diario con nicotina o vehículo, la diferencia estadística en los pesos había sido borrada:  $313.58 \pm 19.44$  para el grupo que recibió nicotina vs.  $314.45 \pm 32.32$  para el grupo que recibió vehículo,  $p > 0.9$ . Estos datos podrían indicar que el grupo que recibió solución salina tuvo un aumento de peso comparativamente mayor ( $\approx 26.3\%$ ) frente al aumento en peso que tuvo el grupo que recibió inyecciones diarias de nicotina ( $\approx 13.6\%$ ). Este fenómeno en la inhibición en la ganancia de peso ha sido observado por algunos autores (Grunberg *et al.*, 1984; Clarke, 1987; Morgan & Ellison, 1987; Grünwald *et al.*, 1988; Weizl *et al.*, 1988), pero no por otros (Fung & Lau, 1988), y un efecto similar parece observarse en humanos fumadores (Clarke, 1987; Morgan & Ellison, 1987; Stolerman & Shoab, 1991).

La actividad locomotora inducida por nicotina no sólo fue de mayor magnitud en ratas con tratamiento crónico, comparada por aquella desplegada por ratas nunca antes expuestas a ésta, sino que también estuvo acompañada de una casi total desaparición de los efectos depresores (no se observa en las ratas ningún indicio de catalepsia o postración posterior a la inyección de nicotina) vistos en ratas no tolerantes y, en términos generales, la conducta locomotora en sí misma fue de carácter mucho más semejante a la actividad "normal", al desaparecer la apariencia estereotipada de la conducta locomotora desplegada por las mismas ratas en el experimento I.

Esta "potenciación" de los efectos estimulantes de la nicotina, paralela al desarrollo de tolerancia a los efectos depresores de la misma, después de un tratamiento con inyecciones diarias de nicotina ha sido extensivamente estudiada y reportada (Clarke & Kumar, 1983a, 1983b; Clarke, 1987; Ksir *et al.*, 1987; Weizl *et al.*, 1990; Ksir, 1994).

### **2.3. EXPERIMENTO III: EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN PREVIA DE HALOPERIDOL O MECAMILAMINA SOBRE LA ACTIVIDAD LOCOMOTORA INDUCIDA POR NICOTINA EN RATAS NUNCA EXPUESTAS A ÉSTA.**

El último paradigma que debíamos de ser capaces de demostrar es que la conducta locomotora que observamos, inducida por una inyección de nicotina, es el resultado de la estimulación de receptores nicotínicos centrales, o sea que, en términos farmacológicos, es sensible al bloqueo previo de los mismos por un antagonista nicotínico que traspasa la barrera hemoencefálica (mecamilamina), y que es mediado por la liberación de dopamina, esto es, que es bloqueado por la administración de un antagonista dopaminérgico inespecífico (haloperidol).

### 2.3.1. MATERIALES Y MÉTODOS:

Dieciocho ratas de  $289 \pm 15$  gramos, nunca expuestas a la nicotina, fueron divididas en tres grupos: uno de ellos recibió 1 mg/kg de mecamilamina SC, otro 1 mg/kg de haloperidol IP y el último 1 ml/kg de solución salina SC. Estas inyecciones fueron dadas después de dos horas y media de acostumbramiento a las cajas de registro de actividad. Después de pasados 30 minutos de la inyección anterior, todos recibieron 1 mg/kg de nicotina SC y la actividad locomotora fue registrada durante las siguientes cuatro horas.

### 2.3.2. RESULTADOS:

La actividad locomotora inducida por nicotina en ratas nunca antes expuesta a ésta, fue significativamente menor después del pretratamiento con mecamilamina (figura 5) o con haloperidol (figura 4). La conducta locomotora que desplegaron las ratas de estos dos grupos no difirió significativamente de los valores de actividad de ratas inyectadas con solución salina (comparación no mostrada).

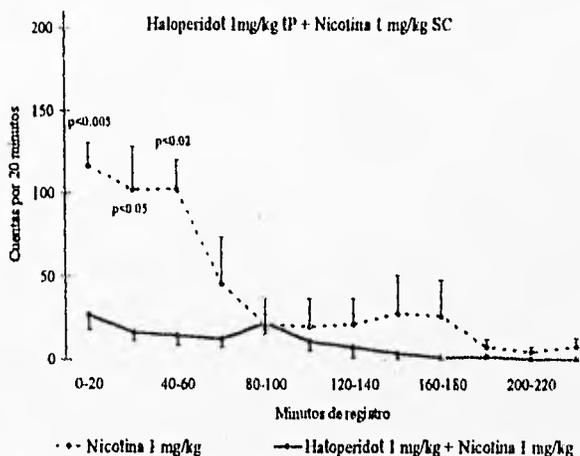
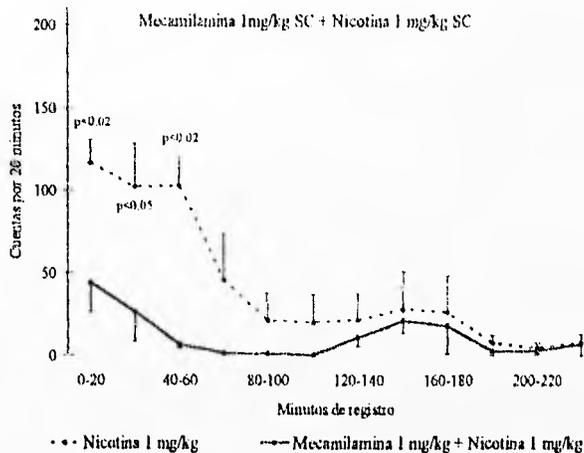


Figura 4. Efecto del pretratamiento con haloperidol (Haloperidol 1 mg/kg + Nicotina 1 mg/kg) o solución salina (Nicotina 1 mg/kg) media hora antes de la administración de nicotina en ratas nunca antes expuestas a ésta.



**Figura 5.** Efecto del pretratamiento con mecamilamina (Mecamilamina 1 mg/kg + Nicotina 1 mg/kg) o solución salina (Nicotina 1 mg/kg) media hora antes de la administración de nicotina en ratas nunca antes expuestas a ésta

### 2.3.3. DISCUSIÓN:

La actividad locomotora inducida por nicotina en ratas nunca antes expuestas a ésta es dependiente de la activación de receptores nicotínicos centrales (fue bloqueada con mecamilamina) y de los receptores dopaminérgicos (fue bloqueada con un antagonista mixto D1/D2, haloperidol). Está reportado que la dosis de mecamilamina administrada no tiene efecto *per se* sobre la conducta locomotora espontánea y que bloquea totalmente la estimulación de la actividad locomotora inducida por nicotina, cuando es administrada 20 minutos antes de la inyección de nicotina (Clarke & Kumar, 1983a, 1983b).

Por otra parte, está demostrado que la nicotina induce actividad locomotora, en ratas, a través de la inducción de la liberación de dopamina de las terminales mesolímbicas del núcleo accumbens (Anderson *et al.*, 1981; Clarke & Pert, 1985; Imperato *et al.*, 1986; Mereu *et al.*, 1987; Lapin *et al.*, 1989; Mifsud *et al.*, 1989; Clarke, 1990; Fung, 1990; Museo & Wise, 1990; Reavill & Stolerman, 1990; Welzl *et al.*, 1990; Izenwasser *et al.*, 1991; Leikola-Pelho & Jackson, 1992; Yoshida *et al.*, 1993; Nisell *et al.*, 1994; Museo & Wise, 1995), y que el bloqueo de cualquier población de receptores dopaminérgicos inhibe la estimulación de la conducta locomotora inducida por nicotina (O'Neill *et al.*, 1991). Los resultados obtenidos en este experimento con el pretratamiento con haloperidol son una evidencia más en este sentido. Sin embargo, hay que hacer notar que, a diferencia de la mecamilamina, se ha demostrado que las drogas neurolepticas que bloquean a los receptores dopaminérgicos, como el haloperidol, reducen marcadamente la actividad locomotora espontánea de las ratas (Iversen, 1977).

## **2.4. EXPERIMENTO IV: EFECTO DEL ACOSTUMBRAMIENTO PREVIO A LAS CAJAS DE REGISTRO Y DE LA INYECCIÓN EN RATAS HABITUADAS A LA NICOTINA.**

### **2.4.1. MATERIALES Y MÉTODOS:**

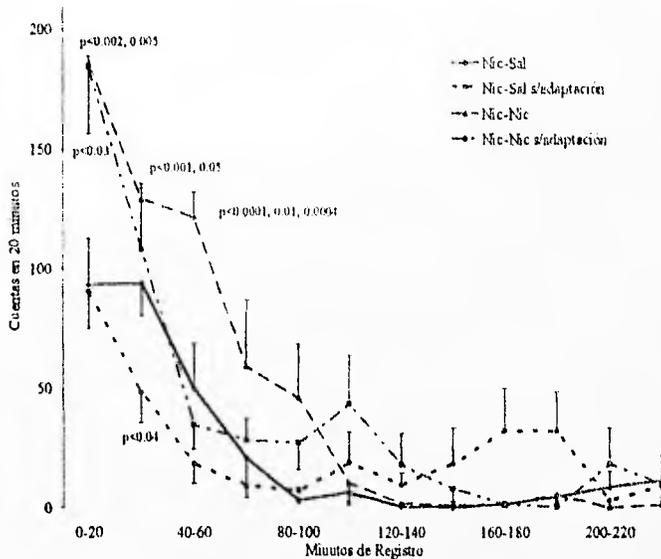
Veinticuatro ratas de  $220 \pm 10.2$  gramos recibieron inyecciones diarias de 1 mg/kg de nicotina por 9 días. Al décimo día de tratamiento se formaron cuatro grupos y, de manera aleatoria, fueron asignados a una de las siguientes condiciones experimentales:

1. Dos grupos fueron acostumbrados durante 3 horas a las cajas de registro; después, uno de los grupos recibió una inyección de 1 ml/kg de solución salina y el otro una inyección de 1 mg/kg de nicotina.
2. Dos grupos no fueron acostumbrados a las cajas de registro; a un grupo se le inyectó solución salina y al otro nicotina, en las mismas dosis que los grupos anteriores, inmediatamente después de retirarlos de sus cajas.

En los cuatro casos se registró la actividad locomotora por las siguientes 4 horas.

### **2.4.2. RESULTADOS:**

Los dos grupos inyectados con nicotina (tanto el grupo acostumbrado como el no acostumbrado a las cajas de registro) tuvieron una actividad locomotora significativamente mayor que los grupos inyectados con solución salina, durante los primeros veinte minutos de registro (figura 6). Sin embargo, mientras la conducta locomotora permaneció significativamente elevada en el grupo acostumbrado a las cajas de registro e inyectado con nicotina por alrededor de 80 minutos, la actividad locomotora del grupo no acostumbrado a las cajas de registro e inyectado con nicotina no fue significativamente diferente de aquella desplegada por el grupo acostumbrado a las cajas de registro e inyectado con solución salina más allá de los primeros 20 minutos, y únicamente fue superior a la del grupo no acostumbrado a las cajas de registro e inyectado con solución salina durante los primeros 40 minutos. La actividad locomotora de los dos grupos inyectados con solución salina fue de igual magnitud durante los primeros 20 minutos, pero la actividad locomotora del grupo no acostumbrado a las cajas de registro decayó más rápidamente que aquella del grupo acostumbrado a las cajas de registro.



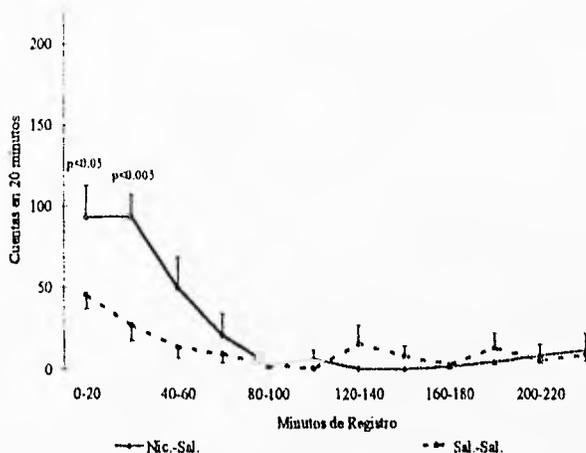
**Figura 6.** Actividad locomotora inducida por nicotina (Nic-Nic y Nic-Nic s/adaptación) o solución salina (Nic-Sal y Nic-Sal s/adaptación) en ratas tratadas crónicamente con nicotina, adaptadas (Nic-Nic y Nic-Sal) o no (Nic-Nic s/adaptación y Nic-Sal s/adaptación) a las cajas de registro.

### 2.4.3. DISCUSIÓN:

La respuesta sensibilizada a nicotina parece depender de varios factores, entre ellos, está uno puramente farmacológico (es decir, la acción de la nicotina *per se*), hay cierta respuesta condicionada a la inyección (pues las ratas tratadas con nicotina e inyectadas con solución salina mostraron una mayor actividad locomotora que aquellas tratadas e inyectadas con solución salina), y una dependencia del previo acostumbramiento o no a las cajas de registro (que se reflejó en una mayor o menor duración, respectivamente, del período de actividad locomotora).

Lo interesante es que, a pesar de que la nicotina sí tiene un efecto estimulante de la locomoción, independientemente de que las ratas hayan sido acostumbradas o no a las cajas de registro, los patrones de respuesta (a *grasso modo*, la forma de la curva de la gráfica anterior) entre ratas acostumbradas inyectadas con nicotina o con solución salina son muy similares, y lo mismo sucede con las ratas no acostumbradas a las cajas de registro. Parecería como si el estrés provocado por la inyección y la introducción inmediata a un ambiente nuevo, no estuviese modificando la magnitud de la respuesta inmediata (en la gráfica, el primer punto, que corresponde a la actividad en los primeros 20 minutos) sino únicamente la duración total de la respuesta.

A pesar de que las ratas fueron tratadas y evaluadas en ambientes distintos, está claro que parte de la respuesta que tienen a la inyección de nicotina es una respuesta condicionada, como bien puede apreciarse en la figura 7, en la que se comparan los datos para ratas acostumbradas a las cajas de registro tratadas diariamente con una inyección de solución salina (experimento H) o con inyecciones diarias de nicotina. Es evidente que, la sola inyección está predisponiendo a las ratas a un efecto estimulante de la locomoción por la administración de nicotina.



**Figura 7.** Actividad locomotora inducida por una inyección de solución salina en ratas con tratamiento crónico con nicotina (Nic.-Sal.) o con solución salina (Sal.-Sal.), acostumbradas a las cajas de registro por 3 horas.

### 3. EFECTO DE LA PRIVACIÓN DE SUEÑO MOR SOBRE LA ACTIVIDAD LOCOMOTORA INDUCIDA POR NICOTINA.

#### 3.1. EXPERIMENTO V: EFECTO DE LA NICOTINA EN LA ACTIVIDAD LOCOMOTORA DE RATAS NUNCA EXPUESTAS A ÉSTA Y PRIVADAS DE SUEÑO MOR POR 96 HORAS.

Después de haber observado que la conducta locomotora inducida por nicotina depende, indirectamente, de la activación de los receptores dopaminérgicos, intentamos demostrar que una manipulación, descrita en la literatura como inductora de un estado hipersensible a agonistas dopaminérgicos, la privación de sueño MOR por 96 horas, debía tener un efecto sinérgico con la nicotina, esto es, que la nicotina después de la privación de sueño MOR debía inducir una conducta locomotora total mayor a aquella inducida en ratas no manipuladas.

### 3.1.1. MATERIALES Y MÉTODOS:

Un grupo de doce ratas, nunca expuestas a la nicotina, de  $268 \pm 19$  gramos fue dividido en dos subgrupos. Ambos fueron privados de sueño MOR por 96 horas, finalizando las cuales uno de los grupos fue inyectado con 1 mg/kg de nicotina y el otro con vehículo. La actividad locomotora fue registrada durante las siguientes 4 horas.

### 3.1.2. RESULTADOS:

La inyección de nicotina aumentó la actividad locomotora en ratas nunca antes expuestas a ésta y privadas de sueño MOR por 96 horas, en relación a la actividad locomotora de ratas privadas por el mismo tiempo de sueño MOR e inyectadas con solución salina (figura 8).

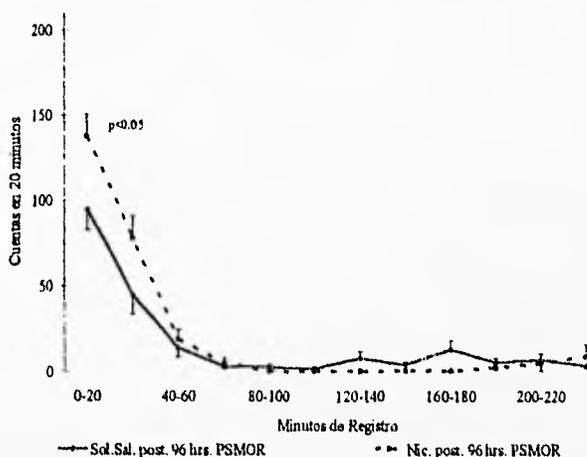


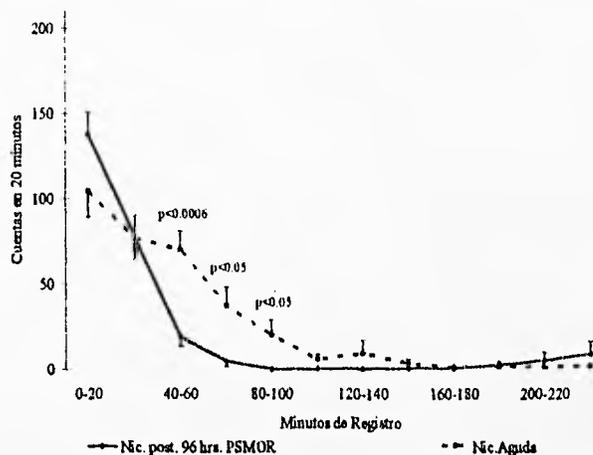
Figura 8. Actividad locomotora inducida por nicotina en ratas no tolerantes y privadas de sueño MOR por 96 horas (Nic. post. 96 hrs. PSMOR) y actividad locomotora inducida por una inyección de solución salina en ratas con 96 horas de privación de sueño MOR (Sol. Sal. post. 96 hrs. PSMOR).

### 3.1.3. DISCUSIÓN:

A pesar de que la administración de nicotina a ratas privadas de sueño MOR estimuló su actividad locomotora por encima de los niveles control (ratas privadas de sueño MOR e inyectadas con solución salina), si ahora, se compara la curva obtenida en el experimento I para las ratas no tolerantes y acostumbradas por tres horas a las cajas de registro con administración de nicotina, contra aquella obtenida para las ratas privadas de sueño MOR por 96 horas e inyectadas con nicotina en este experimento (figura 9), se ve que nuestra hipótesis (que las ratas privadas de sueño MOR presentarían una mayor conducta locomotora que ratas no privadas, frente a una administración de nicotina) no se cumplió. Siendo optimistas, lo único que podíamos pensar es que, las ratas privadas de sueño MOR muestran una ligera

tendencia a tener una conducta locomotora mayor dentro de los primeros 20 minutos de registro, tendencia que no llega a alcanzar valores significativos ( $p > 0.1$ ). Por otra parte, el efecto de la nicotina se ve drásticamente reducido en su curso temporal con la privación de sueño MOR, pues es prácticamente inexistente después de los primeros 40 minutos (*versus* los más de 80 que dura en condición basal). La caída en la actividad locomotora de ratas privadas de sueño MOR no se corresponde con el tiempo de vida media de la nicotina en el cerebro de la rata, que es de 90 minutos (Clarke, 1987; Hakan & Ksir, 1991) puesto que, en aproximadamente media hora, decae en un 50%.

En pocas palabras, la privación de sueño MOR por 96 horas no potenció el efecto estimulante de la nicotina sobre la locomoción en ratas nunca antes expuestas a ésta, sino que, por el contrario, redujo la duración de dicho efecto, conservando la magnitud inicial de la respuesta.



**Figura 9.** Actividad locomotora inducida por nicotina en ratas no tolerantes, privadas de sueño MOR por 96 horas (Nic. post. 96 hrs. PSMOR), y en ratas no tolerantes sin manipulación de sueño y acostumbradas durante 3 horas previas a las cajas de registro.

### 3.2. EXPERIMENTO VI: EFECTO DE LA NICOTINA SOBRE LA CONDUCTA LOCOMOTORA DE RATAS HABITUADAS A LA NICOTINA PRIVADAS DE SUEÑO MOR POR 96 HORAS.

Nuestras conjeturas acerca del fracaso de la hipótesis del experimento V apuntaban a que podía ser posible que la privación de sueño MOR estuviese potenciando los efectos conductuales depresores de la nicotina, por ello, pensamos que, ratas tratadas crónicamente, esto es, tolerantes a los efectos depresores de la nicotina, pudieran responder de manera distinta a lo que lo estaban haciendo las ratas no tolerantes después de la privación de sueño MOR.

### 3.2.1. MATERIALES Y MÉTODOS:

Las ratas utilizadas en el experimento II fueron divididas en cuatro subgrupos (dos tratados crónicamente con nicotina, y dos controles, que habían recibido, en lugar de la nicotina, inyecciones de solución salina) y se procedió a privar de sueño MOR por 96 horas a cada subgrupo, uno por vez, sirviendo uno como control del otro. Durante los cuatro días de privación de sueño MOR, tanto en el grupo privado como en el control se suspendieron las inyecciones. El control de privación consistió en que las ratas pasaran los cuatro días en sus cajas, sin recibir inyecciones y, a las 96 horas fueran pesadas, inyectadas y colocadas, sin previa adaptación, en las cajas de registro. Las ratas que fueron privadas descansaron durante 30-45 minutos por día, tiempo durante el cual los botes de privación eran limpiados, y, a las 96 horas fueron retiradas de los botes, pesadas, inyectadas y colocadas abruptamente en las cajas de registro de actividad y registradas durante 4 horas.

Adicionalmente, las ratas inyectadas con nicotina, tanto después de la privación de sueño MOR como del grupo no acostumbrado, permanecieron por 8 horas más, una vez terminado el período de registro de actividad, en las cajas de registro, pasadas las cuales (en total 12 horas después de finalizado el período de privación de sueño MOR) volvieron a ser inyectadas con la misma dosis de nicotina y fue registrada su actividad por otras 4 horas.

### 3.2.2. RESULTADOS:

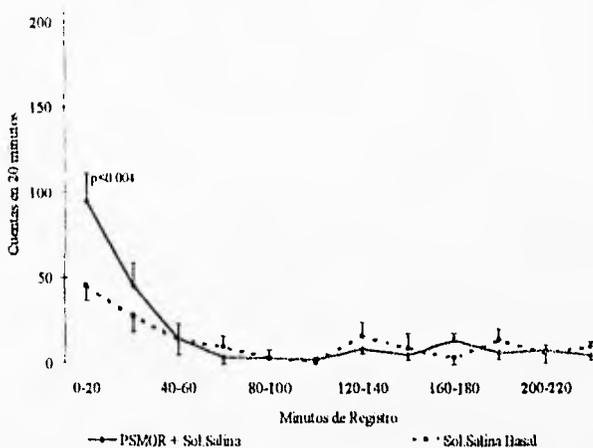
Si se comparan la actividad locomotora desplegada por las ratas privadas de sueño MOR e inyectadas con solución salina, contra aquella que desplegaron esas mismas ratas, en el experimento II, previo acostumbramiento por 3 horas a las cajas de registro, la actividad locomotora desplegada por las ratas privadas de sueño MOR, como está citado en la literatura, parece ser mayor que aquella desplegada por las ratas no manipuladas (fig. 10). Sin embargo, este aumento aparente, significativo únicamente en los primeros 20 minutos, no parece deberse a un efecto específico de la privación de sueño MOR, puesto que, cuando la actividad locomotora de las ratas privadas de sueño MOR es comparada con aquella desplegada por ratas no acostumbradas a las cajas de registro, esto es, ratas que fueron tomadas de sus cajas-hogar, pesadas, inyectadas con solución salina e inmediatamente colocadas en las cajas de registro; las aparentes diferencias quedan completamente opacadas (fig. 11) y ambos grupos demuestran el mismo curso temporal de inducción de actividad locomotora.

Al igual que en el experimento IV, las ratas privadas de sueño MOR por 96 horas e inyectadas con nicotina despliegan una actividad locomotora bastante mayor a aquella del control, y, ahora sí, con un curso temporal mucho más largo (figura 12), siendo, la conducta locomotora de ratas inyectadas con nicotina, significativamente mayor una hora y media después del comienzo del registro de actividad.

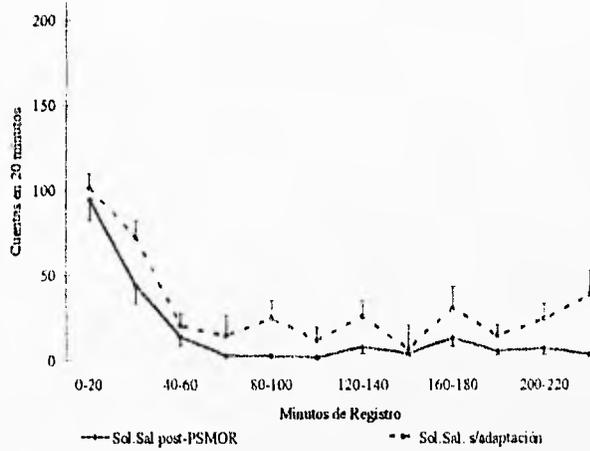
Si se compara la actividad desplegada por ratas privadas de sueño MOR e inyectadas con nicotina contra la actividad que ellas mismas desplegaron, en el experimento II, frente a una inyección de la misma dosis de nicotina posterior a 3 horas de adaptación a las cajas de registro (figura 13), se ve que, al igual que en el experimento IV, las ratas privadas de sueño MOR muestran los mismos valores iniciales de actividad que aquellas acostumbradas a las cajas de registro, pero un curso temporal muy disminuido. El mismo caso se da cuando

comparamos la actividad de ratas privadas de sueño MOR, con ratas no acostumbradas a las cajas de registro (figura 14).

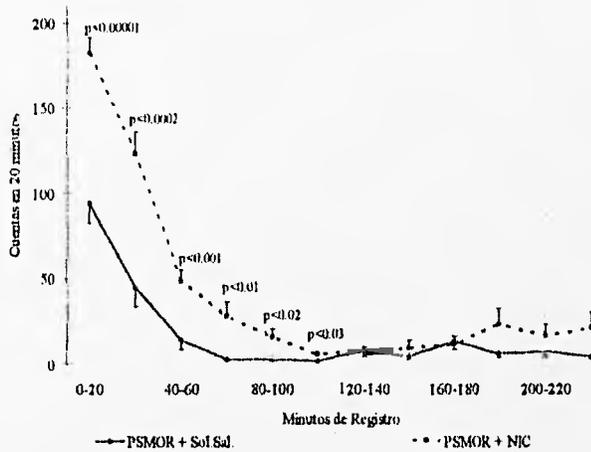
Por último, las ratas privadas de sueño MOR por 96 horas muestran una hiporesponsividad (figura 15) en la magnitud del curso temporal no inmediato, frente a la administración de nicotina, aún después de haberseles permitido 12 de descanso, frente a aquellas ratas que no habían sido acostumbradas a las cajas de registro (en este caso, ambos grupos habían sido acostumbrados a las cajas de registro).



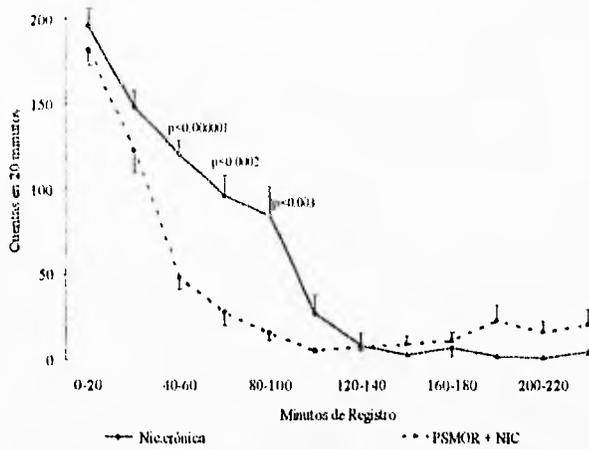
**Figura 10.** Actividad locomotora inducida por una inyección de solución salina en ratas nunca expuestas a la nicotina acostumbradas durante 3 horas a las cajas de registro (Sol. Salina Basal) y ratas que fueron sometidas a 96 horas de privación de sueño MOR (PSMOR + Sol. Salina).



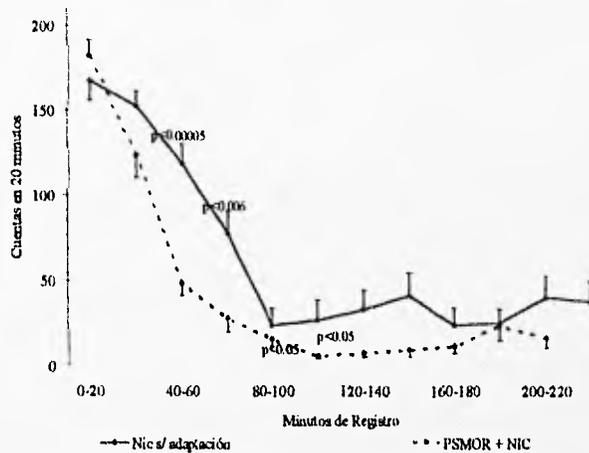
**Figura 11.** Actividad locomotora inducida por una inyección de solución salina en ratas privadas por 96 horas de sueño MOR (Sol. Sal post-PSMOR) o registradas sin previo acostunbramiento a las cajas de registro de actividad (Sol. Sal s/adaptación).



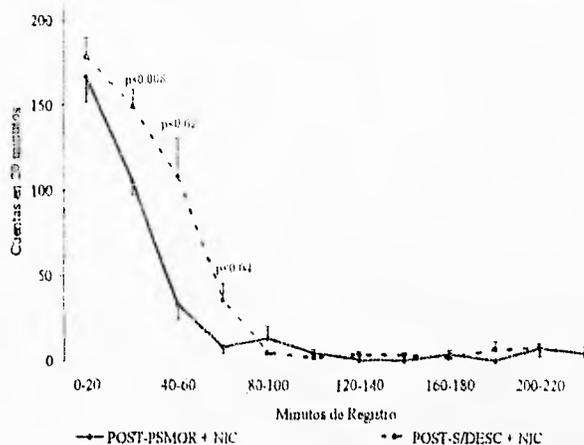
**Figura 12.** Actividad locomotora inducida, después de 96 horas de privación de sueño MOR, por nicotina en ratas tratadas crónicamente con ésta (PSMOR + NIC) o por solución salina en ratas nunca expuestas a la nicotina (PSMOR + Sol. Sal.).



**Figura 13.** Comparación entre la actividad locomotora inducida por nicotina en ratas tratadas crónicamente con ésta y acostumbradas a las cajas de registro durante 3 horas (Nic.crónica) y las mismas ratas después de 4 días de privación de sueño MOR (PSMOR + NIC).



**Figura 14.** Actividad locomotora inducida por nicotina en ratas tratadas crónicamente con nicotina, después de 96 horas de privación de sueño MOR (PSMOR + NIC) o tratadas crónicamente, con interrupción por 96 horas del tratamiento y no acostumbradas a las cajas de registro (Nic s/adaptación).



**Figura 15.** Actividad locomotora inducida por nicotina en las mismas ratas de la figura 12 después de 12 horas de dicha evaluación, acostumbradas por 3 horas a las cajas de registro.

### 3.2.3. DISCUSIÓN:

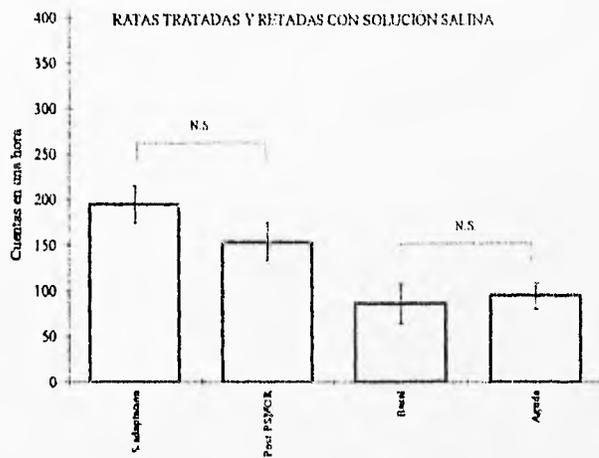
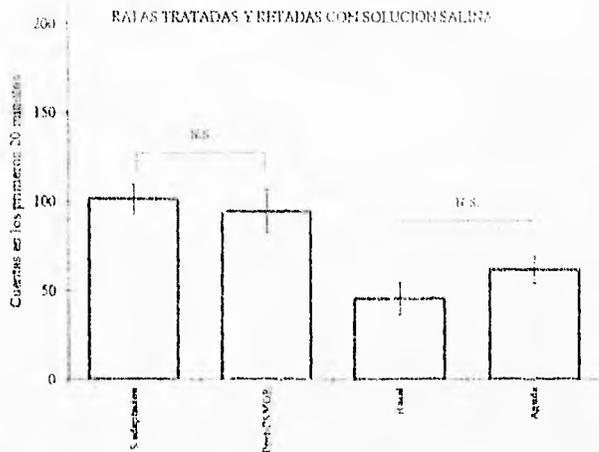
Durante las 96 horas de privación de sueño MOR todos los grupos tuvieron una reducción significativa de peso ( $\approx 13.7\%$ ,  $p < 0.05$ ) comparados con el momento previo a la privación, mientras que los grupos que permanecieron en sus cajas tuvieron un aumento no significativo de peso ( $\approx 6.7\%$ ,  $p > 0.01$ ) en el mismo periodo. Sin embargo, parece interesante hacer notar que las ratas que se sometieron a un tratamiento crónico con nicotina, sufrieron pérdidas de peso mayores que aquellas que habían sido tratadas con solución salina durante las 96 horas de privación de sueño MOR:  $\approx 15.62\%$  para el grupo tratado con nicotina vs  $\approx 11.76\%$  para el grupo tratado con solución salina. En contraste, las ganancias de peso durante el mismo periodo para las ratas que permanecieron sin manipulación alguna en sus cajas, fueron similares:  $\approx 6.56\%$  para el grupo pretratado con nicotina vs  $\approx 6.8\%$  para el grupo pretratado con vehículo. No existe en la literatura disponible ningún trabajo que conjunte la privación de sueño MOR con tratamiento crónico con nicotina.

No hay evidencias de que la privación de sueño MOR *per se* induzca un aumento en la actividad locomotora, puesto que, el sólo hecho de no adaptar a las ratas a sus cajas de registro, generó el mismo patrón de respuesta en el registro de actividad locomotora que el desplegado por ratas privadas de sueño MOR por 96 horas, entre ratas inyectadas con solución salina. Lo anterior es más evidente en la figura 16 en la que se compara la actividad locomotora, tanto en los primeros 20 minutos de registro como aquella acumulada durante la primer hora, de ratas habituadas a las cajas de registro por tres horas, tanto inyectadas por primera vez con solución salina como después de nueve días de inyecciones diarias de solución salina, contra la actividad locomotora desplegada por ratas no adaptadas a las cajas de registro, privadas o no de sueño MOR por 96 horas. Como puede verse, el patrón de res-

puesta locomotora ante el estrés por manipulación que representa la aplicación de una inyección, no cambia con la inyección diaria de solución salina y, tampoco difiere entre ratas privadas de sueño MOR por 96 horas y ratas no habituadas a sus cajas de registro. Así, parecería que la actividad locomotora aumentada que han reportado ciertos autores, después de un tiempo prolongado de privación de sueño MOR (Fratta *et al*, 1987) podría no corresponder más que a la actividad locomotora normal que despliega una rata cuando es expuesta a un medio novedoso.

La actividad locomotora inducida por nicotina en ratas privadas de sueño MOR por 96 horas fue mucho mayor en aquellas ratas que fueron tratadas crónicamente, antes de la privación, con la misma dosis de nicotina. Por ello parecería que, la sensibilización a los efectos estimulantes de la nicotina parecen preservarse a través de los 4 días de privación de sueño MOR. Sin embargo, esta actividad locomotora fue de significativa menor duración que aquella que desplegaron ratas con tratamiento crónico con nicotina no manipuladas de sueño (tanto acostumbradas como no a las cajas de registro).

Se ha descrito en la literatura (Neumann *et al*, 1990) que el estado de supersensibilidad a agonistas dopaminérgicos, que se presenta después de un período prolongado de privación de sueño MOR, persiste aún 24 horas después de finalizado el tiempo de privación. De acuerdo con lo anterior, la conducta locomotora inducida por un agonista dopaminérgico indirecto, en este caso la nicotina, debería ser mayor en ratas privadas de sueño MOR, después de que las ratas hubieran descansado durante 12 horas. Para nuestra sorpresa, no fue éste el caso: doce horas después del registro de actividad locomotora posterior a la privación, por 96 horas, de sueño MOR, las ratas siguieron presentando un curso temporal de respuesta locomotora a la nicotina menor que aquel desplegado por las ratas que no habían sido acostumbradas a las cajas de registro.



**Figura 16.** Actividad locomotora inducida por una inyección de solución salina en ratas nunca tratadas con nicotina acostumbradas por tres horas a las cajas de registro sin nunca antes recibido una inyección (Aguda) o después de 9 días de inyecciones de solución salina diaria (Basal) y en ratas sin adaptación previa a las cajas de registro (S/adaptación) o después de 96 horas de privación de sueño MOR. La gráfica superior representa la actividad desplegada en los primeros 20 minutos de registro y la inferior, la actividad acumulada en la primera hora de registro. "N.S." se refiere a grupos que no difieren estadísticamente ( $p > 0.05$ ).

### **3.3. EXPERIMENTO VII: EFECTO DE 24, 48 Y 72 HORAS DE PRIVACIÓN DE SUEÑO MOR SOBRE LA CONDUCTA LOCOMOTORA INDUCIDA POR NICOTINA EN RATAS NUNCA EXPUESTAS A ÉSTA.**

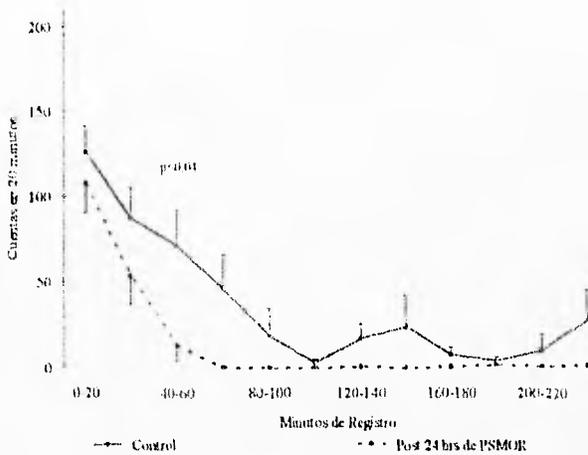
Frente a los resultados de los experimentos previos, quedaba una sola cuestión por dilucidar: la falta de resultados positivos podría haber sido debida a un tiempo excesivo de privación de sueño MOR. Esto es, que el efecto estimulante quedase enmascarado por una presión a sueño demasiado alta.

#### **3.3.1. MATERIALES Y MÉTODOS:**

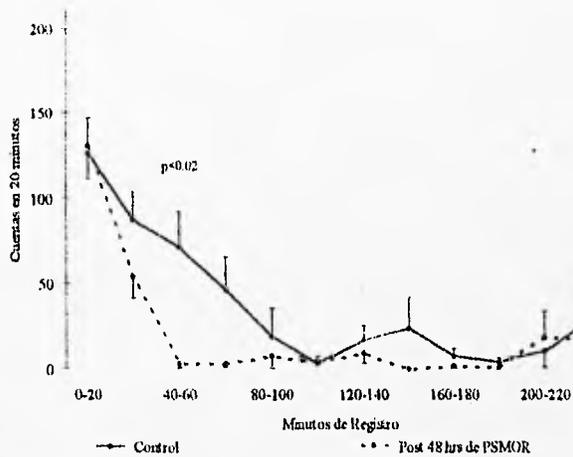
Un grupo de 24 ratas de  $203 \pm 18.3$  gramos fue dividido en 4 subgrupos de 6 ratas cada uno. De manera escalonada, a partir del cuarto día, cada uno de los grupos fue acostumbrado por 3 horas a las cajas de registro y se les registró la actividad locomotora por 4 horas posteriores a la administración de una inyección subcutánea de 1 ml/kg de sol. salina. Dentro de los tres días posteriores a éste, los distintos grupos fueron privados de sueño MOR por 72, 48, 24 horas, o no privados, de manera que el primer grupo pasó los 3 días en los botes de privación, el segundo pasó el primer día en su caja y los dos siguientes en los botes de privación, el cuarto pasó los dos primeros días en su caja y el tercero en los botes de privación y el último permaneció por todo el tiempo en su caja. Después de esto, las ratas fueron retiradas de los botes de privación (o de la caja en caso del grupo no privado), pesadas, inyectadas con 1 mg/kg de nicotina, colocadas en las cajas de registro y se les cuantificó la actividad por las siguientes 4 horas.

#### **3.3.2. RESULTADOS:**

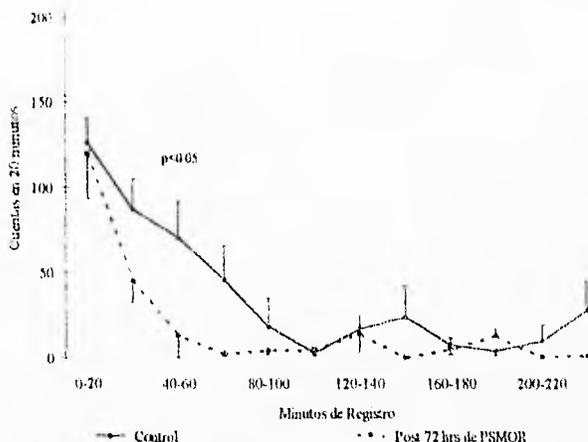
En todos los grupos privados de sueño MOR (figuras 17, 18 y 19) la respuesta locomotora inmediata ante la administración fue igual a la del grupo control, mientras que la duración del efecto estimulante fue significativamente menor.



**Figura 17.** Actividad locomotora inducida por nicotina en ratas nunca expuestas a ésta y no acostumbradas a las cajas de registro (Control) o después de 24 horas de privación de sueño MOR (Post 24 hrs de PSMOR).



**Figura 18.** Actividad locomotora inducida por nicotina en ratas nunca expuestas a ésta y no acostumbradas a las cajas de registro (Control) o después de 48 horas de privación de sueño MOR (Post 48 hrs de PSMOR).



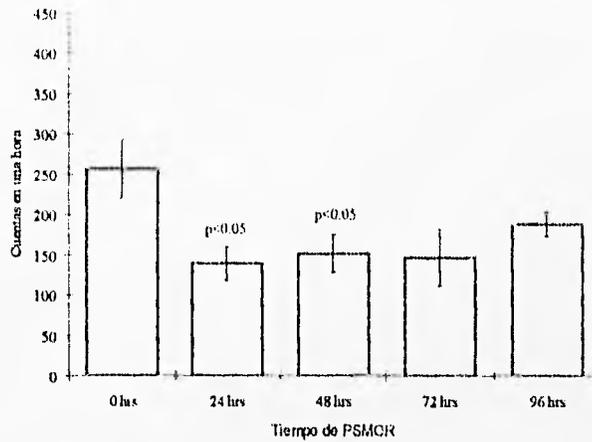
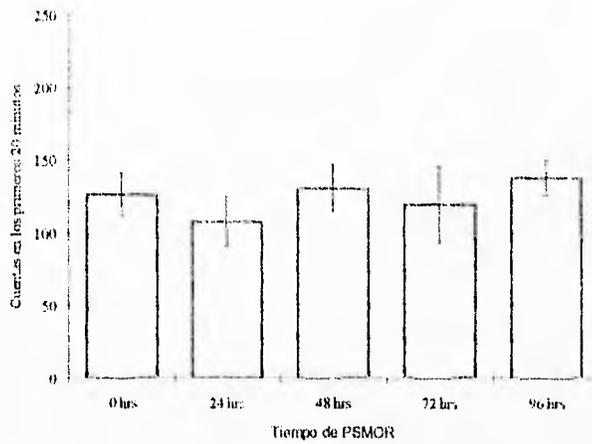
**Figura 19.** Actividad locomotora inducida por nicotina en ratas nunca expuestas a ésta y no acostumbradas a las cajas de registro (Control) o después de 72 horas de privación de sueño MOR (Post 72 hrs de PSMOR).

### 3.3.3. DISCUSIÓN:

Comparados con el peso que tenían el día de registro de actividad con solución salina, los porcentajes en las variaciones de peso al momento del registro de actividad locomotora con nicotina, en el cuarto día, fueron las siguientes: -16.81% para el grupo privado por 72 horas, -12.55% para el grupo privado por 48 horas, -7.12% para el grupo privado por 24 horas y +8.19% para el grupo no privado. Sin embargo, en ningún caso las diferencias entre los pesos fueron estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ).

Otra vez sobra decir que las expectativas no fueron cubiertas. De hecho, el patrón de respuesta a la nicotina después de la privación parece no cambiar conforme aumenta el tiempo de permanencia en las cámaras de privación de sueño MOR, y, en todos los casos, la actividad locomotora desaparece casi por completo después de pasada media hora de la inyección de nicotina. Tanto 24, 48 o 72 horas de privación de sueño MOR produjeron un patrón de respuesta similar al de 96 horas de privación de sueño MOR en ratas nunca expuestas a la nicotina: la magnitud de la respuesta inicial fue la misma de ratas no acostumbradas a las cajas de registro, sin embargo, su vida media fue mucho menor.

En la figura 20 se comparan las actividades locomotoras en los primeros veinte minutos de registro para cada uno de los grupos de ratas nunca antes expuestas a la nicotina privadas de sueño MOR contra aquella de ratas no acostumbradas a las cajas de registro. Como puede observarse en dicha figura, la previa privación de sueño MOR no altera la respuesta locomotora de las ratas a la nicotina, tan sólo se nota una disminución en la duración de la respuesta, reducción solamente significativa en los grupos de 24 y 48 horas de privación de sueño MOR.



**Figura 20.** Cuentas acumuladas en los primeros 20 minutos de registro, en la gráfica superior, y en la primera hora de registro, en la gráfica inferior, de actividad de ratas nunca antes expuestas a la nicotina y privadas de sueño MOR. Comparaciones estadísticas contra el grupo "0 hrs", esto es, sin manipulación de sueño y no acostumbrado a las cajas de registro.

### **3.4. EXPERIMENTO VIII: EFECTO DE 24, 48 Y 72 HORAS DE PRIVACIÓN DE SUEÑO MOR SOBRE LA CONDUCTA LOCOMOTORA INDUCIDA POR NICOTINA EN RATAS HABITUADAS A ÉSTA.**

Quedaba una pregunta por contestar: ¿Es aún posible que, ratas tolerantes a los efectos depresores de la nicotina, privadas de sueño MOR por un periodo menor al de 96 horas, presentaran una conducta locomotora mayor, que aquella desplegada por ratas no manipuladas, en respuesta a una administración sistémica de nicotina?

#### **3.4.1. MATERIALES Y MÉTODOS:**

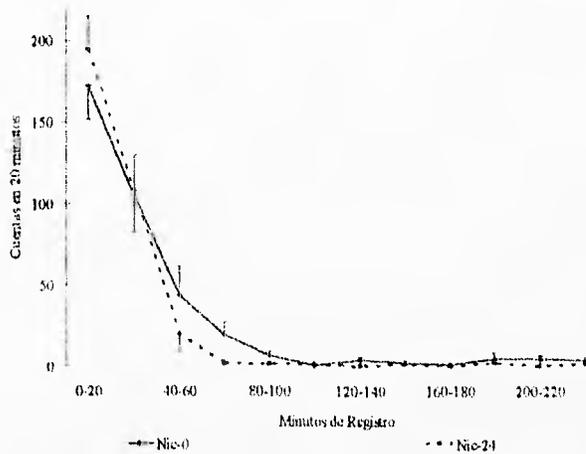
Después del experimento anterior, las 6 ratas de cada grupo recibieron inyecciones diarias de 1 mg/kg de nicotina por los siguientes 9 días. Durante los siguientes 3 días las inyecciones de nicotina fueron suspendidas. En este periodo se siguió un esquema similar al del experimento VI:

- El grupo que no había sido privado en el experimento VI se privó de sueño MOR por 72 horas.
- El grupo que había sido privado por 24 horas se privó por 48.
- El grupo que había sido privado por 48 se privó por 24.
- El grupo que había sido privado por 72 horas se dejó sin manipular en sus cajas.

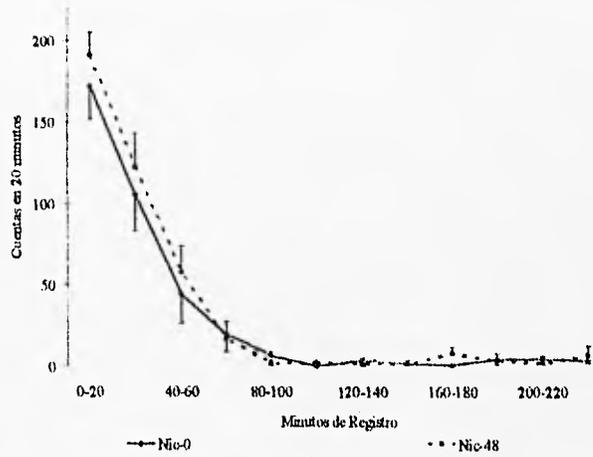
Al cuarto día, los animales fueron retirados de los botes de privación (o de su caja en el caso del control), inyectados con 1 mg/kg de nicotina y se les registró la actividad locomotora por las siguientes 4 horas.

#### **3.4.2. RESULTADOS:**

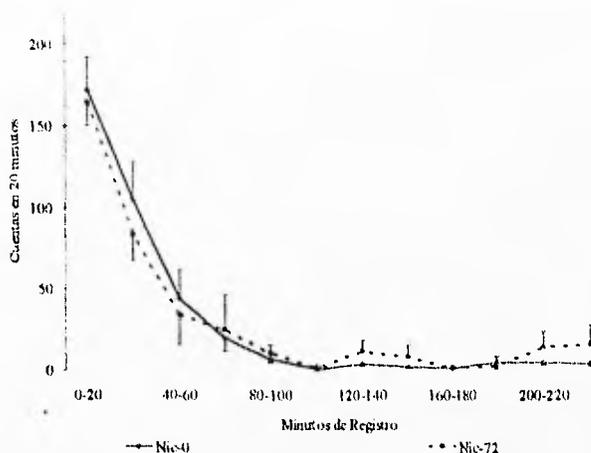
La actividad locomotora inducida por nicotina en ratas tratadas crónicamente con ésta y privadas de sueño MOR por 24, 48 o 72 horas fue virtualmente idéntica a aquella que desplegaron ratas tratadas crónicamente con nicotina, no manipuladas y no acostumbradas a las cajas de registro (figuras 21, 22 y 23).



**Figura 21.** Actividad locomotora inducida por nicotina en ratas tratadas crónicamente con ésta y no acostumbradas a las cajas de registro (Nic-0) o privadas por 24 horas de sueño MOR (Nic-24).



**Figura 22.** Actividad locomotora inducida por nicotina en ratas tratadas crónicamente con ésta y no acostumbradas a las cajas de registro (Nic-0) o privadas por 48 horas de sueño MOR (Nic-48).



**Figura 23.** Actividad locomotora inducida por nicotina en ratas tratadas crónicamente con ésta y no acostumbradas a las cajas de registro (Nic-0) o privadas por 72 horas de sueño MOR (Nic-72).

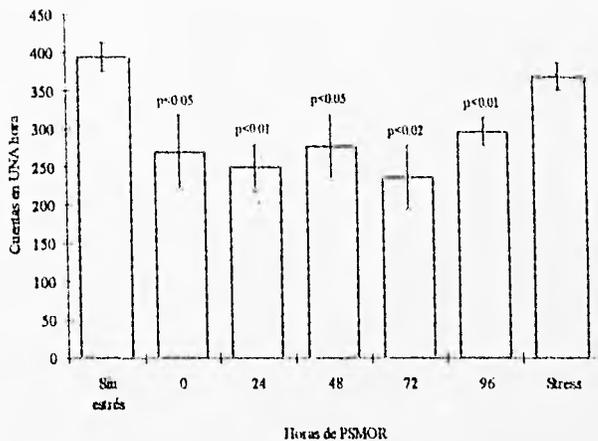
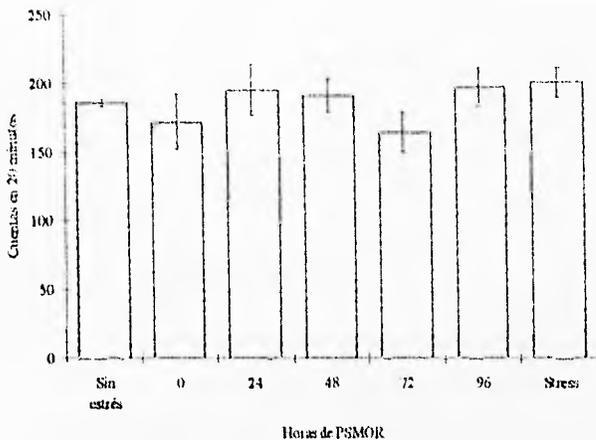
### 3.4.3. DISCUSIÓN

Es interesante recalcar, nuevamente, la enorme similitud de los patrones de respuesta a la nicotina, independiente por completo del tiempo de privación de sueño MOR.

En la figura 24 se compara la actividad locomotora de ratas tratadas crónicamente con nicotina y privadas de sueño MOR, o no acostumbradas a las cajas de registro, por diferentes tiempos contra aquella desplegada por ratas tratadas crónicamente con nicotina y acostumbradas a las cajas de registro por tres horas. Los resultados saltan a la vista. En lo inmediato después de la inyección, esto es, en los primeros 20 minutos de registro, no existen diferencias entre los grupos privados de sueño MOR por distintos tiempos, tanto si se trata de ratas nunca expuestas como ratas tratadas crónicamente con nicotina. Es más evidente aquí, que las principales diferencias se dan en el curso temporal a mediano plazo de la inyección. ¿Qué quiere decir que una rata que ha pasado 4 días en un medio fuertemente estresante despliegue, durante 20 minutos, aparentemente la misma cantidad de actividad locomotora que aquella que permaneció durante todo ese tiempo en su casa-hogar?. Es difícil tratar de comunicar la experiencia a alguien que no la haya visto. Una rata sale del bote de privación, incluso después de 24 horas, en un estado lamentable. Hay ratas por cuya vida no apostaría ni un peso. Sin embargo, la nicotina las "devuelve a la vida", si me permito la vulgaridad del término. Y, tanto es así, que alcanzan a desplegar la misma cantidad de actividad locomotora que una rata perfectamente imperturbada. Yo no creo que exista una falta de interacción absoluta entre la privación de sueño MOR y la nicotina, simplemente, creo yo, que éste se da tanto a un nivel inferior a lo sensible de la prueba, como con una duración temporal muy corta. Lo que, evidentemente, no explica la falta de concordancia entre las hipótesis planteadas y los resultados obtenidos. Aún así, pensando en retrospectiva, es posi-

ble que la cuantificación de comportamientos estereotipados hubiese arrojado resultados, tal vez, más tajantes entre los grupos. Lamentablemente estábamos y seguimos estando técnicamente incapacitados para hacerlo. Al decir que la nicotina las devuelve a la vida, quería referirme a que su aspecto cambia por completo y, de hecho, dedican bastante tiempo a cambiarlo. Cualitativamente hablando, pasan mucho más tiempo limpiándose, comiendo y bebiendo que una rata que no recibió la inyección de nicotina.

En breve, tanto en ratas no tolerantes a la nicotina, como en ratas tratadas crónicamente con ésta, la previa privación de sueño MOR, o el hecho de no haber sido acostumbradas a las cajas de registro, redujo su respuesta a mediano plazo (actividad acumulada en la primer hora de registro) sin alterar significativamente la respuesta inmediata (actividad locomotora durante los primeros veinte minutos de registro). En general, puede decirse que la previa exposición crónica intermitente (por una única inyección diaria) a la nicotina aumentó significativamente la respuesta locomotora a la misma dosis bajo cualquier condición experimental, durante, al menos, los primeros veinte minutos. Ratas privadas de sueño MOR por 24, 48, 72 o 96 horas o no acostumbradas a sus cajas de registro desplegaron actividad locomotora por un tiempo significativamente menor al que lo hicieron ratas acostumbradas por tres horas a sus cajas de registro.



**Figura 24.** Cuentas acumuladas por ratas tratadas crónicamente con nicotina y privadas de sueño MOR. Comparaciones estadísticas contra el grupo "Sin estrés", esto es, el grupo de ratas que fue acostumbrado por 3 horas, antes de la evaluación, a las cajas de registro. La denominación de "Stress" hace referencia al grupo de ratas con estrés por inmovilización durante dos horas antes de la administración de nicotina (Experimento IX). La gráfica superior representa la actividad desplegada en los primeros 20 minutos de registro y la inferior, la actividad acumulada en la primera hora de registro.

## **4. EFECTO DEL ESTRÉS Y DEL PRETRATAMIENTO CON UN NEUROLÉPTICO SOBRE LA CONDUCTA LOCOMOTORA INDUCIDA POR NICOTINA EN RATAS TOLERANTES.**

### **4.1. EXPERIMENTO IX: EFECTO DEL ESTRÉS POR INMOVILIZACIÓN POR DOS HORAS SOBRE LA CONDUCTA LOCOMOTORA DE RATAS HABITUADAS A LA NICOTINA.**

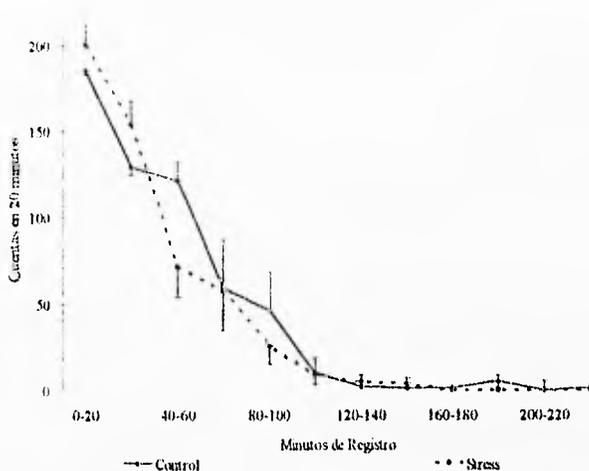
Hasta ahora, la idea emergente de los experimentos pasados, parecería ser que, el estrés estaba, de alguna manera, moldeando los patrones de respuestas de las ratas a la nicotina. Para estudiar un poco más a fondo este efecto, intentamos ver si la exposición a un estresor fuerte único, por un tiempo breve, nos indicaría un poco más lo que sucede.

#### **4.1.1. MATERIALES Y MÉTODOS:**

El grupo no privado del experimento VIII recibió 3 días de inyecciones diarias de nicotina y, al cuarto día fue acostumbrado a las cajas de registro por 2 horas, después de las cuales fue sometido a estrés por inmovilización, dentro de cámaras de acrílico transparentes, por 2 horas, finalizadas las cuales fueron retirados de las mismas, inyectadas con 1 mg/kg de nicotina y se les registró la actividad locomotora por 4 horas.

#### **4.1.2. RESULTADOS:**

La curva de actividad locomotora para el grupo con estrés por inmovilización por dos horas (figura 25) no difirió estadísticamente en ningún punto con aquella desplegada por ratas acostumbradas previamente por 3 horas a las cajas de registro de actividad (experimento VII).



**Figura 25.** Actividad locomotora inducida por nicotina en ratas tratadas crónicamente con ésta y acostumbradas por tres horas a las cajas de registro (Control) o acostumbradas por dos horas a las cajas de registro y estresadas por inmovilización durante 2 horas previas a la administración de nicotina (Stress).

#### 4.1.3. DISCUSIÓN:

El estrés por inmovilización por dos horas tampoco modificó el patrón de respuesta de ratas tratadas crónicamente con nicotina ante una exposición a dicha droga.

#### 4.2. EXPERIMENTO X: EFECTO DEL TRATAMIENTO POR 5 DÍAS CON HALOPERIDOL SOBRE LA CONDUCTA LOCOMOTORA INDUCIDA POR NICOTINA EN RATAS TOLERANTES.

Una de las hipótesis, descrita en la introducción, que se maneja para explicar la hiper-responsividad ante agonistas dopaminérgicos que se da después de un período prolongado de privación de sueño MOR, es que dicha manipulación provoca un aumento en el número de receptores de tipo D2 en los campos terminales dopaminérgicos. La exposición prolongada a altas dosis de un antagonista dopaminérgico tiene, sobre dicha población de receptores, el mismo efecto: provoca el desarrollo de un estado de hiper-responsividad ante agonistas dopaminérgicos por regulación-hacia-arriba de receptores de tipo D2. En este experimento quisimos poner a prueba lo anterior, esto es, si la aplicación de una manipulación farmacológica descrita muchas veces como generante de un estado hipersensible a dopamina, es capaz de incrementar la actividad locomotora inducida por nicotina en ratas tolerantes a esta última.

#### 4.2.1. MATERIALES Y MÉTODOS:

Doce ratas tratadas crónicamente con una inyección subcutánea diaria de 1 mg/kg de nicotina por quince días fueron divididas en dos grupos, al mismo tiempo que se derivó la administración de nicotina. El primero de los grupos recibió, durante 5 días, tres inyecciones de 1 mg/kg de haloperidol, una inyección de 2 mg/kg y una de 3 mg/kg, a razón de una inyección cada 24 horas por vía intraperitoneal. El segundo grupo recibió, en paralelo, inyecciones de volumen correspondiente de solución salina por la misma vía de administración. Después de pasadas 48 horas desde la última inyección, ambos grupos fueron acostumbrados por 3 horas a las cajas de registro de actividad y, a los dos se les midió la actividad locomotora después de una inyección de 1 mg/kg de nicotina subcutánea. El mismo procedimiento fue repetido a las 120 horas de finalizado el tratamiento con haloperidol. Entre las dos evaluaciones no se les administró ninguna droga.

#### 4.2.2. RESULTADOS:

Cuarenta y ocho horas después del fin del tratamiento con haloperidol, la nicotina indujo una actividad locomotora significativamente mayor, por alrededor de una hora, en ratas que fueron tratadas con el neuroléptico que en aquellas tratadas con solución salina (figura 26). Cuarenta y ocho horas después, aunque las ratas tratadas con haloperidol seguían mostrando una tendencia a una activación locomotora por nicotina mayor, las diferencias ya no eran estadísticamente significativas (figura 27).

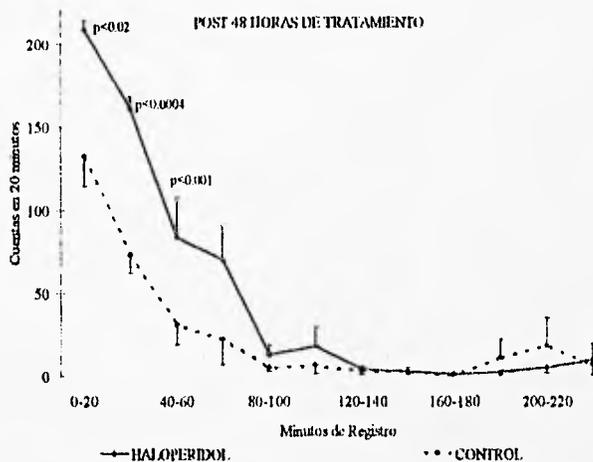


Figura 26. Actividad locomotora inducida por nicotina en ratas tolerantes después de 48 horas de haber terminado un tratamiento de 5 días con haloperidol (HALOPERIDOL) o de 5 días de interrupción en el tratamiento con nicotina.

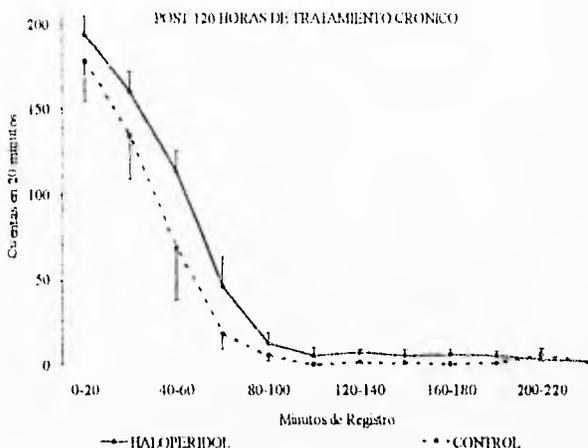


Figura 27. Actividad locomotora inducida por nicotina en las mismas ratas de la figura anterior 48 horas después (durante las cuales no fueron manipuladas farmacológicamente) de la evaluación anterior, o sea, 96 horas después de haber finalizado el tratamiento crónico con haloperidol.

#### 4.2.3. DISCUSIÓN:

En principio, parecería que el haloperidol generó, efectivamente, un estado de sensibilidad elevada en las ratas, puesto que aquellas que recibieron dicho tratamiento presentaron una actividad locomotora significativamente mayor que las ratas control. Sin embargo, una comparación no cuantitativa de esta gráfica con, por ejemplo, las gráficas del experimento II, revela que no es la actividad de las ratas tratadas con haloperidol la que está alterada, sino que es, más bien, la de las ratas control la que está anormalmente baja, para tratarse de ratas tolerantes a los efectos depresores de la nicotina. Fue por esto que decidimos realizar, 48 horas después, un segundo registro, después del cual, la cuestión parecía quedar más clara: aunque las ratas que recibieron el tratamiento con haloperidol siguieron mostrando una clara tendencia a desarrollar una conducta locomotora mayor que las ratas control, esta diferencia no era ya estadísticamente significativa. Si se observa con cuidado, podrá apreciarse que las curvas de actividad locomotora de las ratas pretratadas con haloperidol son virtualmente idénticas en las figuras 26 y 27. Aquello que cambió, por tanto, fue la cantidad de actividad locomotora desplegada por el control entre una y otra prueba.

En otras palabras, podría especularse que, la suspensión de las inyecciones de nicotina por 5 días, en ratas tratadas crónicamente con ésta, reduce en alguna medida el grado de sensibilización del sistema, situación que parecería ser, de alguna manera y en cierto grado, antagonizada con la administración de un antagonista dopaminérgico inespecífico durante ese período.

## 5. EFECTO LOCOMOTOR DE LA *d*-ANFETAMINA SOBRE RATAS PRIVADAS DE SUEÑO MOR POR 96 HORAS.

### 5.1. EXPERIMENTO XI:

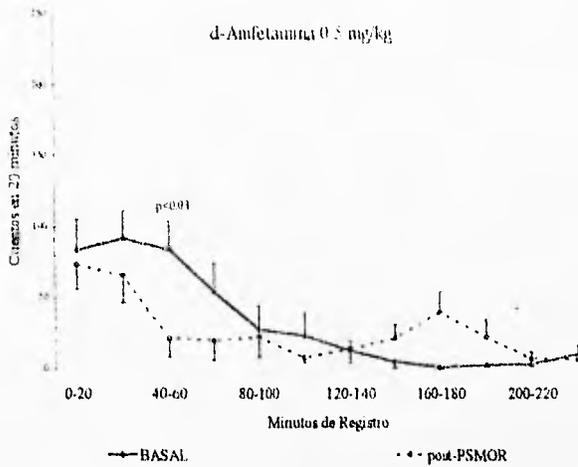
Ya que, en muchos de los trabajos que se han realizado sobre los efectos conductuales de la nicotina, se caracteriza a la parte sensible a antagonistas dopaminérgicos de dichos efectos, como una acción "similar a la anfetamina" (*amphetamine like action of nicotine*), decidimos averiguar qué efectos tenía, en nuestro sistema, la administración de *d*-anfetamina después de 96 horas de privación de sueño MOR, comparada con su administración en condiciones basales. No se utilizaron controles de solución salina porque lo único que nos interesaba era saber si la conducta locomotora desplegada por la administración de un agonista dopaminérgico indirecto podía ser cuantitativamente alterada por una manipulación descrita en la literatura como generante de un estado hipersensible a agonistas dopaminérgicos.

#### 5.1.1. MATERIALES Y MÉTODOS:

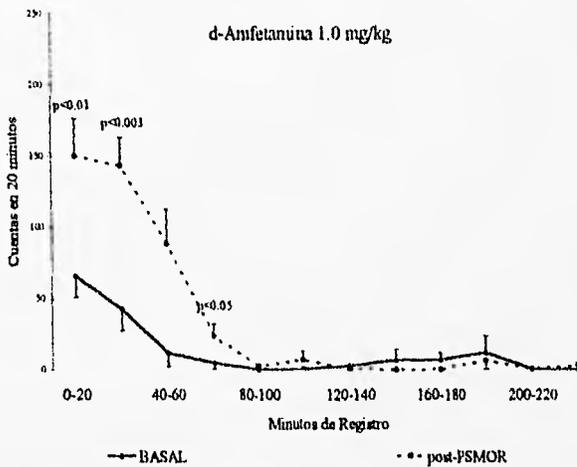
Veinticuatro ratas de entre 250 y 300 gramos fueron divididas en cuatro grupos. A cada grupo se le administró una de cuatro dosis de *d*-anfetamina: 0.5, 1.0, 1.5 o 2.0 mg/kg. Se les midió la actividad locomotora, sin acostumbramiento previo a las cajas de registro, durante 4 horas. Después, se las dejó descansar una semana, pasada la cual fueron privadas por 96 horas de sueño MOR. Después de la privación de sueño, fueron inyectadas con la misma dosis de anfetamina con la que habían sido evaluadas anteriormente y se les registró, de nuevo, la actividad locomotora, por 4 horas.

#### 5.1.2. RESULTADOS:

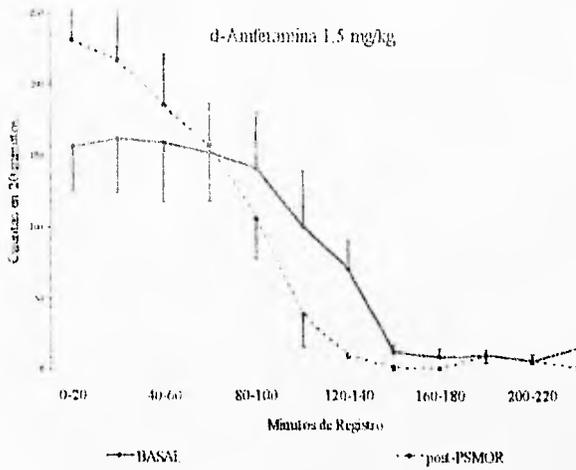
La privación de sueño MOR por 96 horas previa aumentó (en dosis de 1.0 mg/kg, figura 29) o tendió a aumentar no significativamente (en dosis de 1.5 y 2.0 mg/kg, figura 30 y 31) la actividad locomotora inducida por una inyección de *d*-anfetamina. Sin embargo, a bajas dosis (0.5 mg/kg, figura 28) inhibió significativamente dicha respuesta.



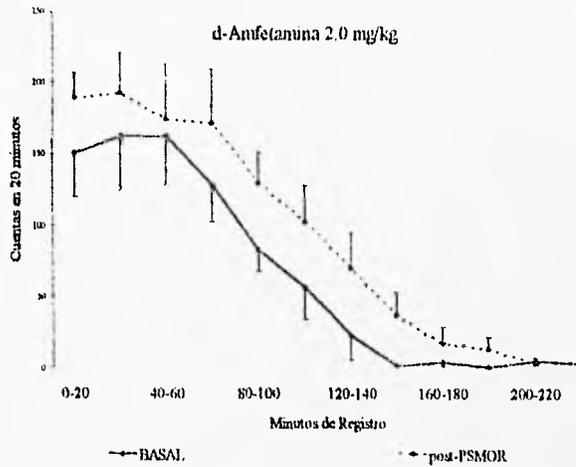
**Figura 28.** Actividad locomotora inducida por 0.5 mg/kg de *d*-amfetamina en ratas en condición basal (BASAL) o privadas de sueño MOR por 96 horas (post-PSMOR).



**Figura 29.** Actividad locomotora inducida por 1.0 mg/kg de *d*-amfetamina en ratas en condición basal (BASAL) o privadas de sueño MOR por 96 horas (post-PSMOR).



**Figura 30.** Actividad locomotora inducida por 1.5 mg/kg de *d*-anfetamina en ratas en condición basal (BASAL) o privadas de sueño MOR por 96 horas (post-PSMOR).



**Figura 31.** Actividad locomotora inducida por 2.0 mg/kg de *d*-anfetamina en ratas en condición basal (BASAL) o privadas de sueño MOR por 96 horas (post-PSMOR).

### 5.1.3. DISCUSIÓN:

Lo primero que se observa, en todos los grupos, es una enorme variabilidad entre las respuestas individuales, mucho mayor a aquella observada en reacción a una administración de nicotina en casi todos los grupos. Lo segundo es que, a bajas dosis en condición basal (0.5 y 1.0 mg/kg), la anfetamina no promueve la actividad locomotora en relación a valores típicamente obtenidos en la misma situación con ratas inyectadas con solución salina; sin embargo, a dosis más altas (1.5 y 2.0 mg/kg) la anfetamina promueve de manera mucho mayor la actividad locomotora de lo que lo hace la nicotina.

La privación por 96 horas de sueño MOR altera de manera muy distinta la respuesta locomotora dependiendo de la dosis de *d*-anfetamina administrada después de ésta:

- En ratas inyectadas con 0.5 mg/kg de anfetamina, la previa privación de sueño MOR por 96 horas parece atenuar la respuesta locomotora de las ratas y, de hecho, ésta es de menor duración.
- En el grupo de ratas inyectadas con 1.0 mg/kg de anfetamina, la privación de sueño MOR induce los cambios más radicales: aumenta significativamente la respuesta locomotora por casi una hora.
- En los grupos de 1.5 y 2.0 mg/kg, la previa privación de sueño MOR parece generar una tendencia no significativa al aumento en actividad locomotora.

## DISCUSIÓN GENERAL

Es importante subrayar que, tal vez en contraste con otros grupos de investigación en sueño, consideramos a la privación de sueño MOR por el método de la plataforma, al menos en ratas, como un potente estresor. Escogimos este modelo porque estaba descrito en la literatura como generador de un estado de hipersensibilidad ante agonistas dopaminérgicos (Tuók, 1981a; Tuók, 1981b; Zelger y Carlini, 1982; Troncone *et al.*, 1988; Tuók, *et al.*, 1987; Neutana *et al.*, 1990). No utilizamos el clásico control de estrés, en plataformas grandes, porque lo que intentábamos hacer era comparar ratas con dicho estado hipersensible contra ratas no sensibilizadas, al menos de esta manera.

Las ratas salen de los botes de privación perturbadas en grado directamente proporcional al tiempo de estadía en dicho dispositivo experimental. Aquello que se ha descrito, dentro del "modelo de insomnio inducido por estrés" (Fratta *et al.*, 1987), como hiperactividad locomotora, después de 48 horas de privación de sueño MOR, puede no ser más que una ilusión: este estudio no apoya la observación de que las ratas privadas de sueño MOR presenten un aumento de la actividad locomotora por los primeros treinta a treinta y cinco minutos posteriores a la privación de sueño MOR *debido* a la privación de sueño MOR *per se*. Las observaciones aquí presentadas más bien apuntan a que el elevado grado de actividad exploratoria que presentan dichas ratas es, más bien, un efecto del estrés al que estuvieron sometidas y que, dicha actividad exploratoria no es mayor que la que se presenta en circunstancias normales por la exposición de un ambiente novedoso.

Si la privación de sueño MOR está actuando como un estresor (Coenen & Van Luijcklaar, 1985; Fratta *et al.*, 1987; Demontis *et al.*, 1990), entonces ¿Porqué no observamos ninguna tendencia a la habituación en los grupos privados por tiempos cada vez más largos?. La respuesta a esta pregunta, con la evidencia aquí presentada es puramente especulativa: porque se está privando a los organismos de una necesidad vital. No se genera tolerancia a la privación de alimento, ni a la privación de agua y ambas condiciones son condiciones estresantes. Lo que estaría sucediendo con las ratas que se colocan en plataformas grandes como "control de estrés" es que, pasadas 24 horas, se acostumbra al ambiente estresante que no la priva de ninguna necesidad vital, puesto que puede hallar la manera de entrar en sueño MOR sin caerse al agua. El punto aquí es que habría que justificar que el sueño MOR sea una necesidad vital y que la privación de una necesidad vital genere una situación estresante frente a la cual no se presente tolerancia, temas en los cuales no podemos añadir ninguna evidencia experimental.

Sin embargo, existen estudios en los que, ratas privadas crónicamente de sueño MOR por el sistema del disco giratorio (brevemente, dos ratas son colocadas sobre un disco dividido diametralmente, una en cada compartimento, con dispositivos de registro automático de sueño; cuando este sistema registra que una de las ratas, la rata experimental, ha entrado a sueño MOR, se enciende el mecanismo que hace rotar al disco y, como consecuencia las ratas se despiertan; por lo tanto, a una de las ratas no se le permite dormir sueño MOR, y la otra puede entrar en todas las fases de sueño, mientras su compañera no entre a sueño MOR, lo cual sirve como control de fragmentación de sueño), mueren entre los treinta y cincuenta días posteriores al comienzo de la privación, momento en el cual, las ra-

tas control no muestran ningún síntoma de deterioro fisiológico, por lo que no existía ninguna indicación de que las ratas no pudieran continuar viviendo bajo estas condiciones experimentales, por lo que, los cambios ocurridos en las ratas experimentales al momento de su muerte, no pueden ser atribuidos a una pérdida crónica parcial de tiempo total de sueño (Kushida *et al.*, 1989). Los autores informan que después de la primer semana de privación, las ratas privadas de sueño MOR se vuelven extremadamente sensibles a la estimulación táctil, saltando y gritando como si se encontraran bajo un gran dolor cuando son ligeramente tocadas, y se vuelven muy agresivas, atacando objetos o manos que se les acercan. La apariencia de las ratas en privación de sueño MOR avanzado, dicen los autores, es indistinguible de la de animales privados por completo de sueño: muestran debilidad motora severa y/o ataxia, lesiones ulcerantes en las plantas de los pies y la cola, el pelaje se vuelve amarillento y se agrega en mechones, la piel de la superficie ventral y alrededor de los ojos y axilas se vuelve sucia y café, y, a veces, aparecen gránulos en la piel y/o pérdida, por parches, de pelo. Estos cambios en la apariencia exterior son reportados acompañados de una ausencia prácticamente total de grasa corporal interna, una reducción a membranas de los tejidos conectivos, glándulas adrenales hipertrofiadas y ligeras y puntuales erosiones del epitelio digestivo. A pesar de que se registra un incremento en la ingesta de alimento, todas las ratas pierden peso progresivamente.

Por lo dicho en el párrafo anterior, puede postularse que el sueño MOR es, de hecho, una necesidad vital y que su eliminación conlleva a un estado estresante que termina, finalmente, con la vida del animal. Ahora, los cambios conductuales y/o de apariencia que informan los autores arriba citados como que ocurren cerca de la muerte de los animales, son cambios que uno observa normalmente, cuando se utiliza el método de la plataforma, alrededor de pasadas 48 horas de privación de sueño MOR. Está reportado que, el método de la plataforma para la privación de sueño MOR es, tal vez el más estresante que existe (Coenen & Van Luijckelaar, 1985), lo cual podría indicar que las ratas que hemos empleado durante este trabajo estaban sometidas a un doble estresor: el estrés de verse privadas de sueño MOR más el estrés por inmovilización, por humedad, por caídas al agua, etc.; lo cual podría, tal vez, hacer que la sintomatología descrita aparezca con anticipación en estas pruebas, al igual que lo haría el momento de muerte.

¿Apoyan, nuestros resultados alguna postura especial en cuanto al tema de las consecuencias que tiene la privación de sueño MOR sobre el sistema dopaminérgico?. Yo creo que sí, nuestros resultados son irreconciliables con la postura de que la hipersensibilidad ante agonistas dopaminérgicos post-privación de sueño MOR sea debida a un aumento en el número de receptores de tipo D2 en el sistema mesolímbico.

Se ha descrito que la conducta locomotora inducida por nicotina puede ser incrementada por la administración adicional de un agonista dopaminérgico selectivo a receptores de tipo D2 (O'Neill *et al.*, 1991). Si la privación de sueño MOR generara un aumento en la concentración de dichos receptores (Nunes *et al.*, 1994), el resultado sería equivalente, o al menos parecido, al de la sobrestimulación de dicha población de receptores por aplicación de un agonista selectivo, manipulación que provoca un fuerte aumento en la conducta locomotora (Borsini *et al.*, 1988; De Arnt *et al.*, 1988; Cabib *et al.*, 1991). Sobra aquí decir que éste no fue el caso en nuestros experimentos.

Además, si el método utilizado para privar de sueño MOR a las ratas es, como a todas luces es evidente, un potente estresor (Coenen & Van Luijckelaar, 1985), y se ha demustra-

do repetidamente que el estrés induce liberación de dopamina de los dos sistemas dopaminérgicos principales (Thierry *et al.* 1976; Isada *et al.* 1978; Cabib *et al.* 1984; Le Moal & Simon, 1991), y además se ha demostrado que, ante altas concentraciones de ligando, los receptores de tipo D2 se regulan hacia abajo (Bram & Chase, 1988; Cabib *et al.* 1991), entonces es impensable que ratas privadas de sueño MOR por 96 horas muestren un aumento en el marcaje para D2.

Por otra parte, la idea de que no haya aumento en la cantidad de receptores de tipo D2, es compatible con las pruebas conductuales de sensibilización, post-privación de sueño MOR, frente a la administración de un agonista dopaminérgico: se ha demostrado que tal estado puede ser inducido por un estresor (Johnson *et al.*, 1995), por administración continua de corticosterona (Johnson *et al.*, 1995), por aumento de la transmisión dopaminérgica con L-DOPA (un precursor de la dopamina) (Tufik, 1981b), por la administración de un agonista dopaminérgico inespecífico (Gianutsos *et al.*, 1974; Tarsy & Baldessarini, 1974; Burt *et al.*, 1976; Christensen *et al.*, 1976; Iversen, 1977; Muller & Seeman, 1977; Christensen & Moller-Nielsen, 1979; Fuchs *et al.*, 1987; Braun & Chase, 1988; Cabib *et al.*, 1991; Le Moal & Simon, 1991) o específico a receptores de tipo D1 (Borsini *et al.*, 1988; Braun & Chase, 1988; Cabib *et al.*, 1991). Es cierto que la supersensibilización de receptores dopaminérgicos, reflejada en una respuesta conductual aumentada frente a la administración de un agonista dopaminérgico, a veces es acompañada de proliferación de receptores (Gianutsos *et al.*, 1974; Burt *et al.*, 1976; Christensen *et al.*, 1976; Iversen, 1977; Muller & Seeman, 1977). Sin embargo, la supersensibilización de receptores dopaminérgicos puede ocurrir en ausencia de un cambio en el número de receptores (Kostrzewa, 1995).

Así, el cuadro que parece emerger, para mí, es el siguiente: la privación de sueño MOR, por el método de la plataforma, induciría, como todo buen estresor, la liberación de dopamina de una manera cuasi continua; dicho incremento en la transmisión dopaminérgica repercutiría en una regulación hacia abajo de receptores de tipo D2 y una sensibilización de receptores de tipo D1. Se sabe que la estimulación, en ratas sensibilizadas por exposición repetida a un agonista D1 específico, con un agonista dopaminérgico inespecífico provoca un aumento en los índices de conductas estereotipadas de dichas ratas, comparadas con la respuesta de ratas no sometidas a tratamiento alguno (Borsini *et al.*, 1988; Braun & Chase, 1988; Cabib *et al.*, 1991). La observación más constante en los trabajos con privación de sueño MOR ha sido, justamente, la presencia de conductas estereotipadas (y de agresión) estimulada por un agonista dopaminérgico inespecífico (apomorfina), en dosis en las cuales normalmente ratas no manipuladas no presentan ningún tipo de dichos comportamientos (Tufik, 1981a; Tufik, 1981b; Zelger y Carlini, 1982; Troncone *et al.*, 1988; Tufik *et al.*, 1987; Neumann *et al.*, 1990), tal vez, de manera análoga al comportamiento de un animal sensibilizado por administración de un agonista dopaminérgico inespecífico (Gianutsos *et al.*, 1974; Tarsy & Baldessarini, 1974; Burt *et al.*, 1976; Christensen *et al.*, 1976; Iversen, 1977; Muller & Seeman, 1977; Christensen & Moller-Nielsen, 1979; Fuchs *et al.*, 1987; Braun & Chase, 1988; Cabib *et al.*, 1991; Le Moal & Simon, 1991).

Este razonamiento podría llegar a explicar parcialmente nuestros resultados. La administración de nicotina a ratas privadas de sueño MOR no promovería, necesariamente, un incremento en la conducta locomotora. Podría, más bien, inducir cierto grado de vigilia y, tal vez, un ligero aumento en las conductas estereotipadas, pero no consigue antagonizar mucho más allá de media hora los efectos de acumulación de presión a sueño generada durante la privación de sueño MOR. Evidentemente, la potencia relativa de la nicotina, como agonista dopaminérgico indirecto, es extremadamente baja, compárese cualquier gráfica de conducta locomotora inducida por nicotina con aquella producto de la administración de 1.5 o 2 mg/kg de anfetamina.

En conclusión, el que no se haya reportado nunca la cuantificación de una respuesta de conducta locomotora inducida por agonistas dopaminérgicos aumentada, puede deberse, tal vez, a alguna de las siguientes posibles circunstancias:

- Por un lado, la privación de sueño MOR puede afectar de manera preferencial el sistema dopaminérgico nigroestriatal, llevando con ello a la inducción de estereotipia mediada por éste frente a la conducta locomotora mediada por el sistema mesolímbico.
- Otro sería que repercutiera de manera distinta sobre las poblaciones de receptores D1 y D2, llevando al sistema a la potenciación de las conductas mediadas principalmente por receptores D1 (entre las cuales se encuentran fuertemente asociada la estereotipia) y una inhibición de las conductas mediadas por receptores de tipo D2 (entre otras, la conducta locomotora).
- Podrían ocurrir los dos casos anteriores.
- La privación de sueño MOR podría hacer que se regularan hacia abajo los receptores dopaminérgicos presinápticos, de manera que el umbral de estimulación dopaminérgica necesario para inducir conductas estereotipadas sea mucho más bajo de lo normal, de manera que su expresión se viese favorecida después de la privación de sueño MOR, enmascarando la expresión de conductas locomotoras.

Otra cuestión importante para tener en cuenta es que se ha demostrado que la administración crónica de nicotina sensibiliza *per se* al sistema dopaminérgico, de una manera análoga a la que lo hace la *d*-amfetamina: ratas tratadas con inyecciones diarias de nicotina son hiper-responsivas a la administración de un agonista dopaminérgico (Sershen *et al.*, 1991; Suemaru *et al.*, 1993). También a la privación de sueño MOR y al estrés se les ha asociado dicha capacidad para modificar el patrón de respuesta a un agonista dopaminérgico. Es de esperarse que existan grados de sensibilización y que dos sensibilizadores débiles sinergisen su acción para dar una sensibilización mayor. Pero, es evidente que el sistema no puede sensibilizarse *ad infinitum* y que, al límite, no hay maniobra alguna que conlleve a un aumento en la magnitud de la respuesta que, por otra parte, sería ya completamente estereotipada.

En la exposición de los resultados fuimos bastante conservadores al atribuir a una supuesta conducta asociativa aprendida, al menos parte de la conducta locomotora inducida por nicotina en ratas con tratamiento crónico con ésta (ver EXPERIMENTO VII). Lo cierto es que podría explicarse en términos de sensibilización el que, ratas con pretratamiento crónico con nicotina, presenten mayor actividad locomotora que ratas pretratada con solución salina, frente a un reto con solución salina. Se sabe que todas las manipulaciones a las que son sometidos los animales de laboratorio son estresores frente a los cuales puede generarse un estado hiper-responsivo a agonistas dopaminérgicos. Inclusive, algunos autores han sostenido que la inyección repetida de solución salina, puede inducir una respuesta aumentada a cocaína o apomorfina. Así, si la manipulación que supone la administración sistémica de una droga induce la liberación de dopamina, y las ratas con tratamiento crónico con nicotina tienen hiper-responsividad ante agonistas dopaminérgicos, es de esperarse que la inyección de solución salina genere, en las ratas sensibilizadas, una respuesta mayor de lo que lo hace realmente.

Se ha demostrado que el estrés agudo, por inmovilización durante dos horas, induce una elevación de los niveles de dopamina en las terminales mesolímbicas mesolímbico (Thierry *et al.*, 1976; Fadda *et al.*, 1978; Cabib *et al.*, 1984; Le Moal & Simon, 1991) y, todos los estudios parecen indicar que la actividad locomotora inducida por nicotina es el producto de la in-

ducción de la liberación de dopamina de las mismas terminales mesolímbicas (Anderson *et al.*, 1981; Clarke & Fert, 1985; Imperato *et al.*, 1986; Meneu *et al.*, 1987; Lapin *et al.*, 1989; Mitsud *et al.*, 1989; Clarke, 1990; Fung, 1990; Museo & Wise, 1990; Reavill & Stolerman, 1990; Weizl *et al.*, 1990; Izenwasser *et al.*, 1991; Leikola-Pelto & Jackson, 1992; Yoshida *et al.*, 1993; Nisell *et al.*, 1994; Museo & Wise, 1995). Si esto fuese realmente el caso, ¿Cómo podría explicarse que no exista un efecto sinérgico entre el estrés por inmovilización y la administración de nicotina, en cuanto a inducción de conducta locomotora?. Existe el reporte de que, un agonista selectivo a D2, tiene un efecto sinérgico, en cuanto a estimulación de la conducta locomotora, con la administración de nicotina en ratas nunca antes expuestas a ésta (O'Neill *et al.*, 1991). No es impensable que la inducción de actividad locomotora por nicotina tenga un límite, esto es, un punto de saturación de la responsividad del sistema más allá del cual ninguna manipulación adicional sea capaz de hacer que se incrementen estos valores; sobre todo si se tiene en cuenta que, a medida que se aumenta la dosis de nicotina, los efectos estimulantes quedan enmascarados con la aparición de efectos tales como náusea, vómito, dificultad respiratoria, taquicardia, catalepsia, postración y, eventualmente, convulsiones y paro respiratorio (Clarke, 1987; Goodman, 1991). Tal vez, podría pensarse que aquello que sucede con las ratas tratadas crónicamente con nicotina es que se encuentren en un punto más allá del cual, la nicotina, no induciría mayor actividad locomotora. Ésto explicaría que la nicotina induzca actividad locomotora en ratas inmovilizadas, pero no más allá de la conducta locomotora máxima que se presenta en ratas tratadas crónicamente con nicotina.

Un mismo comportamiento mediado por dopamina puede ser el resultado de distintas manipulaciones farmacológicas, dependiendo, entre otras cosas, del estado de los sistemas dopaminérgicos en el momento de la aplicación de un fármaco (Giannous *et al.*, 1974; Tarsy & Baldessarini, 1974; Burt *et al.*, 1976; Christensen *et al.*, 1976; Iversen, 1977; Muller & Seeman, 1977; Christensen & Moller-Nielsen, 1979; Fuchs *et al.*, 1987; Braun & Chase, 1988; Cabib *et al.*, 1991; Le Moal & Simon, 1991). Así, podríamos pensar que el aparente incremento en la conducta locomotora en ratas tratadas con haloperidol pudiera ser el resultado de dos opciones diametralmente opuestas:

- ¿Podrían encontrarse semejanzas entre la acción de la nicotina sobre el sistema dopaminérgico y la acción del haloperidol, de manera que el tratamiento con haloperidol perpetuara la sensibilización del sistema a su estimulación por nicotina?. Creo que al punto no hay evidencias experimentales que permitan contestar afirmativamente a la pregunta. Sin embargo, es interesante hacer notar que se ha demostrado que la administración subcutánea de haloperidol produce, a parte de catalepsia dosis dependiente, un incremento en la liberación de dopamina y de los niveles de DOPAC y HVA medidos por microdiálisis *in vivo*. Sin embargo, el curso temporal del efecto estimulador del haloperidol sobre la liberación de dopamina no coincide con aquel de sus metabolitos. La liberación de dopamina regresa a sus valores basales antes de que lo hagan sus metabolitos, inclusive cuando los niveles de éstos están estabilizados y la catalepsia es máxima (Imperato & Di Chiara, 1985).
- Por otra parte, podría darse el caso de que el haloperidol induzca una regulación hacia arriba de receptores de tipo D2 (Burt *et al.*, 1976; Fuchs *et al.*, 1987) y, por tanto, que el aumento en la conducta locomotora sea el producto de la estimulación de un mayor número de receptores de tipo D2, independientemente de que se haya ido perdiendo, al menos parcialmente al igual que en el grupo control, la sensibilidad a nicotina.

El otro punto a tocar es: porqué son tan parecidas entre sí las curvas de actividad locomotora post-privación de sueño MOR, en tiempo de exposición diferente, y las curvas

de actividad locomotora sin pre-habitación a las cajas de registro, sobre todo por la observación constante de que, aparentemente, la privación de sueño MOR y el no acostumbamiento a las cajas de registro, reducen la *duración* del efecto de nicotina, sin afectar la *magnitud máxima* del mismo. De hecho, es curioso que, en ratas no sometidas a ninguna manipulación farmacológica, la privación de sueño MOR o el estrés de ser colocadas en un ambiente novedoso aumente los índices de actividad locomotora, mientras que, ratas a las que se les administra nicotina tienden a tener una respuesta menor a ésta si han estado expuestas a privación de sueño MOR o a estrés por no habitación a cajas de registro. Es más curioso aún que el estrés por inmovilización por 2 horas cause no sólo una respuesta diferente al pretratamiento con los otros estresores, sino una actividad locomotora virtualmente idéntica a la que despliegan ratas habituadas por 3 horas a sus cajas de registro.

Debe de existir algo que acorte la vida media del efecto de la nicotina en, por lo menos, el cerebro de la rata. Sería posible que si se generara un aumento en la tasa de degradación de la nicotina, la vida media de la misma, y por tanto la vida media de su efecto, pudiese estar disminuida sin que el sistema fuese menos responsivo a la concentración máxima de la misma. Es interesante notar que se ha reportado que la privación de sueño MOR causa un incremento en la actividad de acetilcolinesterasa (AChE), la enzima que degrada la acetilcolina (Thakkar & Mallick, 1991). Ésto podría dar, como consecuencia, niveles bajos de ACh en el cerebro de la rata y, por tanto, una menor estimulación de los receptores colinérgicos nicotínicos en ratas privadas de sueño MOR, que se traduciría en una activación menor de la actividad locomotora.

Se ha postulado, como quedó expresado en la introducción, que parte de la tolerancia que se desarrolla a los efectos depresores de la nicotina está generada por niveles elevados de corticosterona pre-inyección (Caggiula *et al.*, 1993). Se ha visto también que la administración de corticosterona reduce varios efectos fisiológicos de la nicotina y que la corticosterona aguda, o una manipulación estresante de la rata que haga que se libere corticosterona, son capaces de reducir algunas de las respuestas a nicotina (Johnson *et al.*, 1995). Sería posible que el estrés por manipulación o por privación de sueño MOR reduzca la duración del efecto locomotor de la nicotina. Sin embargo, ¿Cómo explicaríamos que el estrés por inmovilización por dos horas no provoque la misma respuesta?. Sería posible formular que este tratamiento, y no los otros, aumente significativamente la concentración de dopamina en las terminales del sistema mesolímbico; de esta manera, la nicotina provocaría una sobre adición de dopamina en el espacio sináptico y, por tanto, aunque su vida media estuviese acortada, esto sería compensado por cantidad extra de dopamina. Sin embargo, otra vez, no existen evidencias experimentales que pudieran hacernos inclinarse por alguna opción.

Una observación bastante común es que, las personas fumadoras, cuando se encuentran nerviosas o "estresadas", aumentan el ritmo de consumo de cigarrillos. ¿Podría tener, este fenómeno, alguna relación con las observaciones arriba mencionadas?, ¿Cabría la interpretación de éste fenómeno en términos de un acortamiento de la vida media de la nicotina inducida por estrés?

Esta no es, sin embargo, la única pregunta que puede plantearse al respecto. No podríamos descartar la posibilidad de que, la privación de sueño MOR provoque una baja en los receptores nicotínicos o en su densidad, aunque deberíamos encontrar altos niveles de actividad locomotora al salir de los botes de privación.

Como puede verse, este trabajo, muy lejos de contestar preguntas, provoca la formulación de muchas nuevas, frente a las cuales es imprescindible la utilización de ensayos experimentales que no sean ya puramente farmacológico-conductuales. Es muy importante dejar bien sentado aquí que estamos plenamente conscientes de que, para intentar dilucidar muchos de los puntos que "quedaron volando", sería necesario la adopción de una postura más holista, ya que a lo largo de toda esta tesis, hemos tratado los problemas de una manera, tal vez, excesivamente reduccionista, de los cuales, los siguientes son únicamente los más evidentes de los mismos:

1. Existen suficientes evidencias de que la nicotina induce la liberación de dopamina, sobre todo en las terminales dopaminérgicas mesolímbicas. Sin embargo, es muchísimo más evidente que ésta no es más que una de las variadas y diversas acciones que provoca a nivel central, sin contar con todos sus efectos periféricos. En este respecto, es mucho más difícil el análisis inequívoco de los resultados que hemos obtenido en este estudio, de lo que hubiese podido hacerse con un agonista dopaminérgico clásico.
2. Está bien documentado que la liberación de dopamina está involucrada en la generación y mantenimiento de la actividad locomotora de una rata, y que drogas que modifican su acción tienden, también, a modificar los patrones de conducta locomotora. Sin embargo, es a todas luces insostenible que éste sea el único nivel al que se lleve a cabo cierta regulación de un proceso tan complejo como la conducta locomotora y, además, es muy posible que la nicotina tenga otras influencias en otros niveles de la jerarquía motora, pues las neuronas dopaminérgicas no son más que un pequeñísimo grupo del conjunto de neuronas que expresan receptores colinérgicos nicotínicos.
3. Está demostrado que ratas privadas de sueño MOR muestran una hiper-responsividad (en cuanto a algunas conductas mediadas por dopamina aunque, como hemos visto en este trabajo, no con todas) ante la administración de un agonista dopaminérgico. Otra vez, esto *no* quiere decir que ésta sea la *única* consecuencia fisiológica que tiene la privación de sueño MOR en las ratas. De hecho, podría sostenerse que no es, ni siquiera, la más importante.
4. Debe de tenerse muy presentes las críticas que, a veces con mucha razón, se le hacen a trabajos del tipo desarrollado en esta tesis: "*Sin importar lo atractivo que pueda ser un acercamiento psicofarmacológico, es difícil interpretar los resultados desde un punto de vista puramente fisiológico, especialmente cuando una droga ha sido administrada periféricamente y cuando el acercamiento funcional está correlacionado con el uso de un ensayo conductual simple. Los resultados de dichos estudios son a menudo confusos, ya que los autores que utilizan esta aproximación pretenden utilizar comportamientos pobremente comprendidos para entender drogas incluso menos conocidas*" (Le Moal y Simon, 1991). Sin embargo, "*nada en neurobiología tiene sentido si no es a la luz del comportamiento*" (Shepherd, 1988).

## CONCLUSIONES

- La administración sistémica de nicotina, en dosis de 1 mg/kg - peso de la sal - y vía de administración subcutánea induce un aumento de la actividad locomotora en ratas.
- La actividad locomotora inducida por nicotina es dependiente, tanto de la activación de receptores nicotínicos (es bloqueada por mecamilamina) como de receptores dopaminérgicos (es bloqueada por haloperidol).
- La experiencia previa con nicotina modifica, aumentando, la respuesta conductual estimulante de la misma nicotina.
- La privación de sueño MOR por 96 horas no induce un aumento significativo en las medidas de actividad locomotora.
- La privación de sueño MOR por 24, 48, 72 o 96 horas reduce la duración del efecto locomotor de la nicotina sin modificar su magnitud inicial, tanto en ratas nunca antes expuestas a la nicotina, como en aquellas tratadas crónicamente con la droga.
- La *D*-anfetamina modifica los patrones de conducta locomotora, en ratas privadas de sueño MOR por 96 horas, de la siguiente manera: inhibe la conducta locomotora en dosis bajas (0.5 mg / kg), aumenta la conducta locomotora en dosis media (1.0 mg / kg) o tiende a aumentarla de manera no significativa en dosis alta (1.5 y 2.0 mg / kg).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andersson, K., Fuxe, K. & Agnati, L.F. (1981) Effects of single injections of nicotine on the ascending dopamine pathways in the rat. *Acta. Physiol. Scand.* 112:345-347.
2. Arnt, J., Bogeso, K.P., Hyttel, J. & Meier, E. (1988) Relative dopamine D1 and D2 receptor affinity and efficacy determine whether dopamine agonists induce hyperactivity of oral stereotypy in rats. *Pharmacology & Toxicology.* 62:121-130.
3. Asakura, W., Matsumoto, K., Ohta, H. & Watanabe, H. (1992) REM sleep deprivation decreases apomorphine-induced stimulation of locomotor activity but not stereotyped behavior in mice. *General Pharmacology.* 23(3):337-341.
4. Benwell, M.E.M. & Balfour, D.J.K. (1992) The effects of acute and repeated nicotine treatment on nucleus accumbens dopamine and locomotor activity. *British Journal of Pharmacology.* 105:849-856.
5. Benwell, M.E.M., Balfour, D.J.K. & Birrell, C.E. (1995) Desensitization of the nicotine-induced mesolimbic dopamine responses during constant infusion with nicotine. *British Journal of Pharmacology.* 114:454-460.
6. Blaha, Ch. & Winn, P. (1993) Modulation of dopamine efflux in the striatum following cholinergic stimulation of the substantia nigra in intact and pedunculopontine tegmental nucleus-lesioned rats. *The Journal of Neuroscience.* 13(3):1035-1044.
7. Borbély, A. (1993) El secreto del sueño. Siglo XXI, México. 220 pp.
8. Borsini, F., Lecci, A., Mancinelli, A., D'Aranno, V. & Meli, A. (1988) Stimulation of dopamine D-2 but not D-1 receptors reduces immobility time of rats in the forced swimming test: implication for antidepressant activity. *European Journal of Pharmacology.* 148: 301-307.
9. Braun, A.R. & Chase, T.N. (1988) Behavioral effects of chronic exposure to selective D-1 and D-2 dopamine receptor agonists. *European Journal of Pharmacology* 147:441-451.
10. Burt, D.R., Creese, I. & Snyder, S.H. (1976) Antischizophrenic drugs: chronic treatment elevates dopamine receptor binding in brain. *Science.* 196:326-328.
11. Cabib, S., Publisi-Allegria, S. & Oliverio, A. (1984) Chronic stress enhances apomorphine-induced stereotyped behavior in mice: involvement of endogenous opioids. *Brain Research.* 298:138-140.

12. Cabib, S., Castellano, C., Cestari, V., Filibeck, U. & Puglisi-Allegra, S. (1991) D1 and D2 receptor antagonists differently affect cocaine-induced locomotor hyperactivity in the mouse. *Psychopharmacology*. 105:335-339.
13. Caggiula, A.R., Epstein, L.H., Antelman, S.M., Saylor, S., Knopf, S., Perkins, K.A. & Stiller, R. (1993) Acute stress or corticosterone administration reduces responsiveness to nicotine: implications for a mechanism of conditioned tolerance. *Psychopharmacology*. 111:499-507.
14. Carlini, E.A., Lindsey, C.J. & Tufik, S. (1971) Cannabis, catecholamines, rapid eye movement sleep and aggressive behaviour. *British Journal of Pharmacology*. 61:371-379.
15. Carlini, E.A. (1977) Further studies of the aggressive behavior induced by  $\Delta^2$ -tetrahydrocannabinol in REM sleep-deprived rats. *Psychopharmacology*. 53:135-145.
16. Christensen, A.V., Fjalland, B. & Moller-Nielsen, I. (1976) On the supersensitivity of dopamine receptors, induced by neuroleptics. *Psychopharmacology*. 48:1-6.
17. Christensen, A.V. & Moller-Nielsen, I. (1979) Dopaminergic supersensitivity: influence of dopamine agonists, cholinergics, anticholinergics, and drugs used for the treatment of tardive dyskinesia. *Psychopharmacology*. 62:111-116.
18. Clarke, P.B.S. & Kumar, R. (1983a) The effects of nicotine on locomotor activity in non-tolerant and tolerant rats. *British Journal of Pharmacology*. 78:329-337.
19. Clarke, P.B.S. & Kumar, R. (1983b) Characterization of the locomotor stimulant action of nicotine in tolerant rats. *British Journal of Pharmacology*. 80:587-594.
20. Clarke, P.B.S. & Pert, A. (1985) Autoradiographic evidence for nicotine receptors on nigrostriatal and mesolimbic dopaminergic neurons. *Brain Research*. 348:355-358.
21. Clarke, P.B.S., Schwartz, R.D., Paul, S.M., Pert, C.B. & Pert, A. (1985) Nicotinic binding in rat brain: autoradiographic comparison of [ $^3$ H]acetylcholine, [ $^3$ H]nicotine, and [ $^{125}$ I]- $\alpha$ -bungarotoxin. *The Journal of Neuroscience*. 5(5):1307-1315.
22. Clarke, P.B.S. (1987) Nicotine and smoking: a perspective from animal studies. *Psychopharmacology*. 92:135-143.
23. Clarke, P.B.S., Jakubovic, A. & Fibiger, H. (1988) Anatomical analysis of the involvement of mesolimbocortical dopamine in the locomotor stimulant actions of *d*-amphetamine and apomorphine. *Psychopharmacology*. 96:511-520.
24. Clarke, P.B.S. (1989) Mapping of brain nicotinic receptors by autoradiographic techniques and the effect of experimental lesions. *Progress in Brain Research*. 79:65-71.

25. Clarke, P.B.S. (1990) Dopaminergic mechanisms in the locomotor stimulant effects of nicotine. *Biochemical Pharmacology*. 40(7):1427-1432.
26. Coenen, A.M.L. & Van Luijckelaar, E.I.J.M. (1985) Stress induced by three procedures of deprivation of paradoxical sleep. *Physiology & Behavior*. 35:501-504
27. Collins, A.C., Ronan, E. & Wehner, J.M. (1988) Nicotine tolerance: an analysis of the time course of its development and loss in the rat. *Psychopharmacology*. 96:7-14.
28. Corsi Cabrera, M. (1983) *Psicofisiología del sueño*. Trillas, México. 335 pp.
29. Damaj, M.I. & Martin, B.R. (1993) Is the dopaminergic system involved in the central effects of nicotine in mice?. *Psychopharmacology*. 111:106-108.
30. Demontis, M.G., Fadda, P., Devoto, P., Martellotta, M.C. & Fratta, W. (1990) Sleep deprivation increases dopamine D1 receptor antagonist [<sup>3</sup>H]SCH 23390 binding and dopamine-stimulated adenylylate cyclase in the rat limbic system. *Neuroscience Letters*. 117:224-227.
31. El-Bizri, H. & Clarke, P.B.S. (1994) Regulation of nicotinic receptors in rat brain following quasi-irreversible nicotinic blockade by chlorisondamine and chronic treatment with nicotine. *British Journal of Pharmacology*. 113:917-925.
32. Fadda, F., Argiolas, A., Melis, M.R., Tissari, A.H., Onali, P.L. & Gessa, G.L. (1978) Stress-induced increase in 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) levels in the cerebral cortex and in *n. accumbens*: reversal by diazepam. *Life Sciences*. 23:2219-2224.
33. Fadda, P., Martellotta, M.C., Gessa, G.L. & Fratta, W. (1993) Dopamine and opioids interactions in sleep deprivation. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 17:269-278.
34. Farber, J., Miller, J.D., Crawford, K.A., & McMillen, B.A. (1983) Dopamine metabolism and receptor sensitivity in rat brain after REM sleep deprivation. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 18:509-513
35. Fratta, W., Callu, M., Martellotta, M.C., Pichini, M. & Gessa, G.L. (1987) Stress-induced insomnia: opioid dopamine interactions. *European Journal of Pharmacology*. 167:299-303.
36. Fuchs, V., Cooper, H. & Rommelspacher, H. (1987) The effect of ethanol and haloperidol on dopamine receptor (D2) density. *Neuropharmacology*. 26(8):1231-1233.
37. Fung, Y.K. & Lau, Y.S. (1986) Acute effect of nicotine on the striatal dopaminergic system in the rat. *J.Pharm.Pharmacol.* 38:920-922.

38. Fung, Y.K. & Lau, Y.S. (1988) Receptor mechanisms of nicotine-induced locomotor hyperactivity in chronic nicotine-treated rats. *European Journal of Pharmacology*. 152:263-271.
39. Fung, Y.K. (1990) The importance of nucleus accumbens in nicotine-induced locomotor activity. *J. Pharm. Pharmacol.* 42:595-596.
40. Gianutsos, G., Drawbaugh, R.B., Hynes, M.D. & Lal, H. (1974) Behavioral evidence for dopaminergic supersensitivity after chronic haloperidol. *Life Sciences*. 14:887-898.
41. Goodman, A., Rall, T.W., Nies, A.S. & Taylor, P. (1991) *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 8ª edición. Médica Panamericana, México. 1751 pp.
42. Grunberg, N.E., Bowen, D.J. & Morse, D.E. (1984) Effects of nicotine on body weight and food consumption in rats. *Psychopharmacology*. 83:93-98.
43. Grünwald, F., Schröck, H., Theilen, H., Biber, A. & Kuschinsky, W. (1988) Local cerebral glucose utilization of the awake rat during chronic administration of nicotine. *Brain Research*, 456:350-356.
44. Hakan, R.L. & Ksir, C. (1991) Acute tolerance to the locomotor stimulant effects of nicotine in the rat. *Psychopharmacology*. 104:386-390.
45. Hamdi, A., Brock, J., Ross, K. & Prasad, C. (1993) Effects of rapid eye movement sleep deprivation on the properties of striatal dopaminergic system. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 46:863-866.
46. Hicks, R.A., Moore, J.D., Hayes, C., Phillips, N. & Hawkins, J. (1979) REM sleep deprivation increases aggressiveness in male rats. *Physiology & Behavior*. 22(6):1097-1100.
47. Hobson, J.A. (1989) *Sleep*. New York: Scientific American Library.
48. Imperato, A., Mulas, A. & Di Chiara, G. (1986) Nicotine preferentially stimulates dopamine release in the limbic system of freely moving rats. *European Journal of Pharmacology*. 132:337-338.
49. Iversen, S.D. (1977) Brain dopamine systems and behavior. En: *Handbook of Psychopharmacology*. Vol 8: *Drugs, Neurotransmitters, and Behavior*. (ed Iversen, L.L., Iversen, S.D. & Snyder, S.H.), pp. 333-384. Plenum Press, New York.
50. Izenwasser, S., Jacocks, H.M., Rosenberger, J.G. & Cox, B.M. (1991) Nicotine indirectly inhibits [<sup>3</sup>H]dopamine uptake at concentrations that do not directly promote [<sup>3</sup>H]dopamine release in rat striatum. *Journal of Neurochemistry*. 56:603-610.

51. Jerome, A. & Sanberg, P.R. (1987) The effects of nicotine on locomotor behavior in non-tolerant rats: a multivariate assessment. *Psychopharmacology*. 93:397-400.
52. Johnson, D.H., Svensson, A.I., Engel, J.A. & Söderpalm, B. (1995) Induction but not expression of behavioural sensitization to nicotine in the rat is dependent on glucocorticoids. *European Journal of Pharmacology*. 276:155-164.
53. Jouvet, M. (1994) Paradoxical sleep mechanisms. *Sleep*. 17:S77-S83.
54. Kalivas, P.W. & Miller, J.S. (1985) Dopamine microinjection into the nucleus accumbens: correlation between metabolism and behavior. *Biochemical Pharmacology*. 34(2):284-286
55. Kalivas, P.W. (1993) Neurotransmitter regulation of dopamine neurons in the ventral tegmental area. *Brain Research Reviews*. 18:75-113.
56. Kelly, D.D. (1991) Sleep and Dreaming. En: *Principles of Neural Science*. 3rd ed. (ed Kandel, E.R., Schwartz, J.H. & Jessell, T.M.) pp. 792-804
57. Kelly, P.H. (1977) Drug-induced motor behavior. En: *Handbook of Psychopharmacology*. Vol 8: Drugs, Neurotransmitters, and Behavior. (ed Iversen, L.L., Iversen, S.D. & Snyder, S.H.), pp. 295-331. Plenum Press, New York.
58. Kostrzewa, R.M. (1995) Dopamine receptor supersensitivity. *Neuroscience and Behavioral Reviews*. 19(1):1-17.
59. Ksir, C., Hakan, R.L. & Kellar, K.J. (1987) Chronic nicotine and locomotor activity: influences of exposure dose and test dose. *Psychopharmacology*. 92:25-29.
60. Ksir, C. (1994) Acute and chronic nicotine effects on measures of activity in rats: a multivariate analysis. *Psychopharmacology*. 115:105-109.
61. Kushida, C.A., Bergmann, B.M. & Rechtschaffen, A. (1989) Sleep deprivation in the rat: IV. Paradoxical sleep deprivation. *Sleep*. 12(1):22-30.
62. Lapin, E.P., Maker, H.S., Sershen, H., Hurd, Y. & Lajtha, A. (1987) Dopamine-like action of nicotine: lack of tolerance and reverse tolerance. *Brain Research*. 407:351-363.
63. Lapin, E.P., Maker, H.S., Sershen, H. & Lajtha, A. (1989) Action of nicotine on accumbens dopamine and attenuation with repeated administration. *European Journal of Pharmacology*. 160:53-59.
64. Leikola-Pelho, T. & Jackson, D.M. (1992) Preferential stimulation of locomotor activity by ventral tegmental microinjections of (-)-nicotine. *Pharmacology & Toxicology*. 70:50-52.

65. Le Moal, M. & Simon, H. (1991) Mesocorticolimbic dopaminergic network: functional and regulatory roles. *Physiological Reviews*. 71(1):155-234.
66. Ling-Ling, T., Bergmann, B.M., Perry, B.D. & Rechtschaffen, A. (1994) Effects of chronic sleep deprivation on central cholinergic receptors in rat brain. *Brain Research*. 642:95-103.
67. Meru, G., Yoon, K.P., Boi, V., Gessa, G.L., Naes, L. & Westfall, T.C. (1987) Preferential stimulation of ventral tegmental area dopaminergic neurons by nicotine. *European Journal of Pharmacology*. 141:395-399.
68. Mifsud, J.Ch., Hernandez, L. & Hoebel, B.G. (1989) Nicotine infused into the nucleus accumbens increases synaptic dopamine as measured by *in vivo* microdialysis. *Brain Research*. 478:365-367.
69. Morgan, M.M. & Ellison, G. (1987) Different effects of chronic nicotine treatment regimens on body weight and tolerance in the rat. *Psychopharmacology*. 91:236-238.
70. Muller, P. & Seeman, P. (1977) Brain neurotransmitter receptors after long-term haloperidol: dopamine, acetylcholine, serotonin,  $\alpha$ -noradrenergic and naloxone receptors. *Life Sciences*. 21:1751-1758.
71. Museo, E. & Wise, R.A. (1990) Microinjections of a nicotinic agonist into dopamine terminal fields: effects on locomotion. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 37:113-116.
72. Museo, E. & Wise, R.A. (1995) Cytisine-induced behavioral activation: delineation of neuroanatomical locus of action. *Brain Research*. 670:257-263.
73. Neumann, B.G., Troncone, L.R.P., Braz, S. & Tufik, S. (1990) Modifications on dopaminergic and cholinergic systems induced by the water tank technique: analysis through yawning behavior. *Arch. Int. Pharmacodyn*. 308:32-38.
74. Nisell, M., Nomikos, G.G. & Sveinsson, T.H. (1994) Infusion of nicotine in the ventral tegmental area or the nucleus accumbens of the rat differentially affects accumbal dopamine release. *Pharmacology & Toxicology*. 75:348-352.
75. Nunes, G.P., Tufik, J.P. S., & Nobrega, J.N. (1994) Autoradiographic analysis of D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> dopaminergic receptors in rat brain after paradoxical sleep deprivation. *Brain Research Bulletin*. 34(5):453-456.
76. O'Neill, M.F., Dourish, C.T. & Iversen, S.D. (1991) Evidence for an involvement of D1 and D2 dopamine receptors in mediating nicotine-induced hyperactivity in rats. *Psychopharmacology*. 104:343-350.

77. Radhakishun, F.S. & Van Ree, J.M. (1987) The hypomotility elicited by small doses of apomorphine seems exclusively mediated by dopaminergic systems in the nucleus accumbens. *European Journal of Pharmacology* 136:41-47.
78. Rampin, C., Cespuglio, R., Chastrette, N. & Jouvet, M. (1991) Immobilisation stress induces a paradoxical sleep rebound in rat. *Neuroscience Letters* 126:113-118.
79. Reavill, C. & Stolerman, I.P. (1990) Locomotor activity in rats after administration of nicotinic agonists intracerebrally. *British Journal of Pharmacology* 99:273-278.
80. Robbins, T.W. (1992) Introduction: Milestones in dopamine research. *Seminars in the Neurosciences* 4:93-97.
81. Salín Pascual, R. & Jiménez Anguiano, A. (1995) Mecanismos colinérgicos involucrados en la privación del SMOR. En: *Temas Selectos de Neurociencias*. (ed. Velázquez Moctezuma, J.), pp. 475-481. Universidad Autónoma Metropolitana, México.
82. Sandor, N.T., Zelles, T., Kiss, J., Sershen, H., Torocsik, A., Lajtha, A. & Vizi, E.S. (1991) Effect of nicotine on dopaminergic-cholinergic interaction in the striatum. *Brain Research* 567:313-316.
83. Schwartz, R.D. & Kellar, K.J. (1983) Nicotinic cholinergic receptor binding sites in the brain: regulation in vivo. *Science* 220: 214-216.
84. Serra, G., Melis, M.R., Argiolas, A., Fadda, F. & Gessa, G.L. (1981) REM sleep deprivation induces subsensitivity of dopamine receptors mediating sedation in rats. *European Journal of Pharmacology* 72:131-135.
85. Sershen, H., Hashim, A., Harsing, L. & Lajtha, A. (1991) Chronic nicotine-induced changes in dopaminergic system: effect on behavioral response to dopamine agonist. *Pharmacology, Biochemistry & Behavior* 39:545-547.
86. Shepherd, G.M. (1988) *Neurobiology*. 2ª edición. Oxford University Press, New York. 689 pp.
87. Sinha, A.K., Ciaranello, R.D., Dement, W.C. & Barchas, J.D. (1973) Tyrosine hydroxylase activity in rat brain following "REM" sleep deprivation. *The Journal of Neurochemistry* 20:1289-1290.
88. Stolerman, I.P. & Reavill, C. (1989) Primary cholinergic and indirect dopaminergic mediation of behavioural effects of nicotine. *Progress in Brain Research* 79:227-237.
89. Stolerman, I.P. & Shoab, M. (1991) The neurobiology of tobacco addiction. *Trends in Pharmacological Sciences* 12:467-473.

90. Suemaru, K., Gomita, Y., Furuno, K. & Araki, Y. (1993) Chronic nicotine treatment potentiates behavioral responses to dopaminergic drugs in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 46:135-139.
91. Tarsy, D. & Baldessarini, R.J. (1974) Behavioural supersensitivity to apomorphine following chronic treatment with drugs which interfere with the synaptic function of catecholamines. *Neuropharmacology*. 13:927-940.
92. Thakkar, M. & Mallick, B.N. (1991) Effect of REM sleep deprivation on rat brain acetylcholinesterase. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*. 39:211-214.
93. Thierry, A.M., Tassin, J.P., Blanc, G. & Glowinski, J. (1976) Selective activation of the mesocortical DA system by stress. *Nature*. 263:242-243.
94. Troncone, L.R.P., Ferreira, T.M.S., Braz, S., Silveira Filho, N.G. & Tufik, S. (1988) Reversal of the increase in apomorphine-induced stereotypy and aggression in REM sleep deprived rats by dopamine agonist pretreatments. *Psychopharmacology*. 94:79-83.
95. Tufik, S., Lindsey, C.J. & Carlini, E.A. (1978) Does REM sleep deprivation induce a supersensitivity of dopaminergic receptors in the rat brain?. *Pharmacology*. 16:98-105.
96. Tufik, S. (1981a) Increase responsiveness to apomorphine after REM sleep deprivation: supersensitivity of dopamine receptors or increase in dopamine turnover?. *J. Pharm. Pharmacol.* 33:732-733.
97. Tufik, S. (1981b) Changes of response to dopaminergic drugs in rats submitted to REM-sleep deprivation. *Psychopharmacology*. 72:257-260.
98. Tufik, S., Troncone, L.R.P., Braz, S., Silva-Filho, A.R. & Neumann, B.G. (1987) Does REM sleep deprivation induce subsensitivity of presynaptic dopamine or postsynaptic acetylcholine receptors in the rat brain?. *European Journal of Pharmacology*. 140:215-219.
99. Van Ree, J.M., Elands, J., Király, I. & Wolterink, G. (1989) Antipsychotic substances and dopamine in the rat brain; behavioral studies reveal distinct dopamine receptor systems. *European Journal of Pharmacology*. 166:441-452.
100. Vogel, G.W. (1975) A review of REM sleep deprivation. *Archives of General Psychiatry*. 32:749761.
101. Welzl, H., Alessandri, B., Oettinger, R. & Baättig, K. (1988) The effects of long-term nicotine treatment on locomotion, exploration and memory in young and old rats. *Psychopharmacology*. 96:317-323.

102. Welzl, H., Bättig, K. & Berz, S. (1990) Acute effects of nicotine injection into the nucleus accumbens on locomotor activity in nicotine-naïve and nicotine-tolerant rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 37:743-746.
103. Wiener, H.L., Lajtha, A. & Sershen, H. (1989) Dopamine D1 receptor and dopamine D2 receptor binding activity changes during chronic administration of nicotine in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-treated mice. *Neuropharmacology*. 28(5): 535-537.
104. Wojcik, W.J. & Radulovacki, M. (1981) Selective increase in brain dopamine metabolism during REM sleep rebound in the rat. *Physiology & Behavior*. 27:305-312.
105. Yoshida, M., Yokoo, H., Tanaka, T., Mizoguchi, K., Emoto, H., Ishii, H. & Tanaka, M. (1993) Facilitatory modulation of mesolimbic dopamine neuronal activity by a  $\mu$ -opioid agonist and nicotine as examined with in vivo microdialysis. *Brain Research*. 624:277-280.
106. Zelger, K.D. & Carlini, E.A. (1982) The persistence of hyperresponsiveness to apomorphine in rats following REM sleep deprivation and the influence of housing conditions. *European Journal of Pharmacology*. 80:99-104.
107. Zwickler, A.P. & Calil, H.M. (1986) The effects of REM sleep deprivation on striatal dopamine receptor sites. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 24(4):808-812.