



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN PRENATAL Y POSTNATAL DE
NICOTINA SOBRE LA SENSIBILIZACIÓN LOCOMOTORA EN RATAS.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
LICENCIADA EN PSICOLOGÍA

PRESENTA:

CLAUDIA CASTELLANOS MARTÍNEZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. ALBERTO SALAZAR JUÁREZ

REVISOR: DR. HUGO SÁNCHEZ CASTILLO

SINODALES: DRA. GABRIELA OROZCO CALDERÓN

DRA. BEATRIZ GÓMEZ GONZÁLEZ

LIC. ALEJANDRA AGUAYO DEL CASTILLO



MÉXICO D.F. 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIA

A mi madre, esa mujer fuerte quien ha sido mi punto de apoyo, mi ejemplo a seguir y a quien amo con todo mi ser.

A mi padre a quien recuerdo con amor y llevo siempre presente.

A mis hermanas Lucy y Carito por el apoyo incondicional. A mi hermanito Alejandro por sus sabios consejos.

A mis amigos de toda la vida: Thania, Karla, Paulina, Viri, Clau B, Tannia y Javier.

A mis compañeras y amigas de la facultad: Paola, Yescica, Kenia y Lizbeth, con quienes compartimos el gusto por las neurociencias, risas, conocimiento y finalmente una de las etapas más importantes de nuestras vidas: la Tesis.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Alberto Salazar, por su paciencia, consejos y asesoramiento en este proceso. A la MVZ Susana Barbosa por las facilidades prestadas para la realización de este trabajo.

A la máxima casa de estudios, la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Psicología.

Finalmente a la Comisión Coordinadora de Institutos Nacionales de Salud y Hospitales de Alta Especialidad por el apoyo proporcionado para la realización del presente trabajo.

Tabla de contenido

ABREVIATURAS	v
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
CAPÍTULO 1: ANTECEDENTES	4
1.1 Sistema de recompensa	4
1.2 Farmacocinética y Farmacodinamia de la nicotina.....	6
1.3 Mecanismo de acción de la nicotina	7
1.4 Efectos del consumo de nicotina	12
1.5 Fisiología materno-fetal	14
1.6 Desarrollo cerebral	15
1.7 Periodo crítico	18
1.8 Exposición a la nicotina en etapa prenatal	20
CAPÍTULO 2: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	23
2.1 Justificación y planteamiento del problema.....	23
2.2 Objetivo general	23
2.3 Objetivos particulares.....	24
2.4 Hipótesis general	24
2.5 Hipótesis particulares	24
CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA	25
3.1 Animales	25
3.2 Droga	26
3.3 Aparato	26
3.4 Procedimiento de sensibilización	27
3.5 Experimento 1: sensibilización dosis-respuesta.....	28
3.6 Experimento 2: Efectos de la nicotina sobre patrones conductuales	29

3.7 Análisis estadístico.....	30
CAPÍTULO 4: RESULTADOS	31
CAPÍTULO 5: DISCUSIÓN	59
CAPÍTULO 6: CONCLUSIÓN	66
REFERENCIAS	67

ABREVIATURAS

ACh	Acetilcolina
ADHD	Trastorno por déficit de atención e hiperactividad
ANOVA	Análisis de Varianza
cm.	Centímetros
DA	Dopamina
DH β E	Dihidro- β -eritroidina
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
g.	Gramos
Glu	Glutamato
i.p.	Intra peritoneal
LDTg	Núcleo tegmental dorsolateral
mg.	Miligramos
mg/Kg	Miligramo por kilogramo
NAcc	Núcleo Accumbens
nAChRs	Receptores nicotínicos colinérgicos
nAChRs α 3	Receptores nicotínicos colinérgicos que contienen la subunidad α 3
nAChRs α 4	Receptores nicotínicos colinérgicos que contienen la subunidad α 4
nAChRs α 6	Receptores nicotínicos colinérgicos que contienen la subunidad α 6
nAChRs α 7	Receptores nicotínicos colinérgicos que contienen la subunidad α 7

nAChRs β 2	Receptores nicotínicos colinérgicos que contienen la subunidad β 2
nAChRs β 4	Receptores nicotínicos colinérgicos que contienen la subunidad β 4
ng/ml	Nanogramo por mililitro
PFC	Corteza prefrontal
pH	Potencial de hidrógeno (índice de acidez o basicidad de una solución acuosa).
PPTg	Núcleo tegmental pedúnculo pontino
5-HT	Serotonina
SAL	Solución salina
s.c.	Subcutánea
SNC	Sistema nervioso central
VTA	Área tegmental ventral

Efectos de la administración prenatal y postnatal de nicotina sobre la sensibilización locomotora en ratas.

Resumen

El consumo de tabaco sigue siendo la causa principal de muerte prevenible a nivel mundial y es la responsable de 1 de cada 10 muertes entre personas adultas. Actualmente, se estima que existen mil millones de hombres y 250 millones de mujeres que fuman a nivel mundial, mostrándose un aumento en el consumo de tabaco en mujeres embarazadas. El tabaquismo materno, está asociado con una variedad de efectos negativos en la progenie debido a que la nicotina altera procesos como: replicación neuronal, diferenciación, inicio y fin de la axogénesis y sinaptogénesis, apoptosis y migración neuronal, procesos que comienzan en etapas prenatales y finalizan más allá del momento del nacimiento.

Durante las últimas dos décadas, los estudios realizados en modelos animales muestran que los efectos directos de la nicotina son debidos a su acción sobre los receptores nicotínicos colinérgicos (nAChRs) los cuales están presentes desde etapas tempranas de desarrollo, expresados en el sistema nervioso central y periférico. Se sabe que la exposición prenatal a la nicotina genera alteraciones en vías colinérgicas asociadas con procesos de aprendizaje, memoria y reforzamiento inducido por drogas adictivas. El presente trabajo tuvo como objetivo caracterizar los efectos de la exposición prenatal a la nicotina sobre la sensibilización locomotora y sobre los efectos aversivos inducidos por la droga en diferentes patrones conductuales (incoordinación motora, broncoespasmos, tetanización, convulsiones e inmovilidad motora). Se encontró que la sensibilización locomotora se vio facilitada en los grupos tratados con nicotina en etapa prenatal mostrando niveles mayores de actividad en la fase de inducción y expresión de la sensibilización locomotora, además, los grupos tratados con nicotina mostraron una atenuación en los efectos aversivos generados por la nicotina. Las diferencias observadas en la sensibilización locomotora y en los efectos periféricos entre los grupos expuestos y no expuestos a la nicotina durante la gestación podrían ser el resultado de cambios a largo plazo dados por el efecto de la droga durante periodos críticos en el desarrollo.

Introducción

La Nicotina (*Nicotiana tabacum*), es uno de los 4000 componentes químicos encontrados en el humo de tabaco y cigarrillos, es el principal componente psicoactivo responsable del efecto adictivo (Yildiz, 2004; Hibb & Zambon, 2012). Actualmente, el consumo de tabaco sigue siendo la causa principal de muerte prevenible a nivel mundial y es la responsable de 1 de cada 10 muertes entre personas adultas. Sin embargo, los efectos del abuso en el consumo de tabaco no afectan únicamente al fumador directo, ya que de acuerdo con reportes de la Organización mundial de la salud (WHO, 2012), existen aproximadamente 430 000 muertes en personas adultas atribuibles al humo de tabaco en el ambiente, de los cuales, el 64% corresponde a mujeres entre las que se encuentran mujeres embarazadas, en tanto que el 28% (166,000) de las muertes corresponde a niños (WHO, 2012).

El tabaquismo materno está asociado con una variedad de efectos negativos en la descendencia (Ernst, Moolchan & Robinson, 2001; Wickström, 2007). Durante el embarazo, la placenta es el vínculo principal entre la madre y el feto (Douglas, 2011) y el medio por el cual la nicotina ejerce sus efectos. Es por ello, que ante la exposición al humo de tabaco durante periodos críticos de desarrollo (prenatal y postnatal temprano) (Morgane, Austin-LaFrance, Bronzino, Tonkiss, Díaz-Cintra, Cintra, Kemper & Galler, 1993) los efectos pueden ser más profundos ya que procesos de inducción neuronal, migración, diferenciación, sinaptogénesis, apoptosis y mielinización se están llevando a cabo (Garner, Zhai, Gundelfinger & Ziv, 2002; Jernigan, Baaré, Stiles & Madsen, 2011).

Durante la etapa prenatal el cerebro en desarrollo es altamente vulnerable a los efectos inducidos por drogas o agentes tóxicos (Dwyer, McQuown & Leslie, 2009) los cuales interfieren con el adecuado desarrollo del sistema nervioso (Slotkin, Cho & Whitmore, 1986), aunque es importante mencionar que los efectos dependen de la velocidad, el grado de transferencia, características fisicoquímicas y estructurales del fármaco (Myren, Mose, Mathiesen & Knudsen, 2007).

Finalmente, se ha descrito que el tabaquismo materno compromete el papel que juega la acetilcolina como factor neurotrófico en el desarrollo del sistema nervioso, ya que la nicotina es capaz de alterar procesos en los que participa normalmente la acetilcolina en etapas tempranas de desarrollo. Procesos que finalizan más allá del momento del nacimiento y los cuales se consideran periodos críticos de desarrollo. Así, la alteración de procesos como: migración neuronal, proliferación celular y diferenciación dados por la exposición prenatal a nicotina, induce alteraciones en vías colinérgicas asociadas con el reforzamiento inducido por drogas adictivas, aumentando el riesgo al consumo de una droga en etapas posteriores (Abreu-Villaça, Seidler, Tate, Cousins & Slotkin, 2004; Khanna, Sharma & Nehru, 2012). Se ha descrito que los efectos mencionados anteriormente son debidos a la acción de la nicotina sobre los receptores nicotínicos colinérgicos (nAChRs) los cuales están presentes desde etapas tempranas de desarrollo. Estos receptores son canales iónicos activados por ligando y actúan regulando directamente la apertura del canal (Dani & De Biasi, 2001) generando la liberación de neurotransmisores como noradrenalina, acetilcolina, ácido γ -aminobutírico (GABA), glutamato y dopamina, este último importante en el refuerzo de estímulos tanto naturales como los dados por drogas de abuso (Nestler, 2005; Koob & Volkow, 2010).

CAPÍTULO 1: ANTECEDENTES

1.1. SISTEMA DE RECOMPENSA

El sistema de recompensa o mesolímbico-cortical, es el sistema neurobiológico encargado de traducir la información relacionada a estímulos gratificantes de diferente naturaleza; como el sexo, la comida (Nestler, 2001) o los generados por el consumo de drogas adictivas (Nestler, 2005), en todos los casos aumentando la probabilidad de que la conducta de búsqueda y consumo se vuelva a repetir.

Una de las características de estos estímulos (naturales o drogas) es la capacidad que tienen para aumentar la liberación de dopamina en el sistema mesolímbico-cortical, de manera particular en el núcleo acumbens (NAcc) (Koob y Bloom, 1988; Nestler, 2005; Koob, 2006). Estudios realizados en roedores utilizando la técnica de microdiálisis han demostrado que tras la administración de drogas como cocaína, anfetamina y metanfetamina se inducen la liberación de dopamina en el NAcc (Pontieri, Tanda & Di Chiara, 1995); contrariamente cuando se administra un antagonista dopaminérgico se observa que las respuestas instrumentales dadas por estímulos gratificantes como drogas se ven disminuidos (Caine & Koob, 1994; Platt, Rowlett & Spealman, 2002), lo que sugiere la importancia de la liberación de dopamina en el NAcc para el valor reforzante de estímulos gratificantes.

El sistema mesolímbico-cortical está constituido por distintas regiones cerebrales entre las que se encuentra el área tegmental ventral (VTA, por sus siglas en inglés). Este es un núcleo cerebral localizado en el mesencéfalo, encargado de traducir la información relacionada con la droga. Este sistema mesolímbico-cortical incluye neuronas dopaminérgicas de proyección larga localizadas en el VTA. Las neuronas del VTA envían sus proyecciones hacia otro núcleo mesencefálico, el núcleo acumbens (NAcc), el cual integra información proveniente del VTA y de otras áreas del cerebro, que incluye principalmente neuronas de tipo GABAérgicas (Esch & Stefano, 2004; Nestler, 2005).

Recientemente se han identificado otras áreas del cerebro que interactúan con el VTA y NAcc en los efectos asociados con la conducta adictiva (Koob & Le Moal, 2001; Robinson & Berridge, 2003). Estas áreas incluyen a la amígdala, que junto con el núcleo acumbens están involucradas en la conducta de búsqueda de la droga; también se encuentran el hipocampo, el hipotálamo y la corteza prefrontal (CPF) (Esch & Stefano, 2004; Koob, 1992; Detar, 2011) esta última asociada en la conducta adictiva con la falta de control inhibitorio prefiriendo recompensas pequeñas inmediatas a recompensas grandes tardías (Volkow, Folwer & Wang, 2003; Baler & Volkow; 2006). Estudios realizados con imagenología cerebral reportan que en sujetos adictos se muestra un deterioro en áreas como corteza prefrontal, hipotálamo, amígdala e hipocampo, específicamente en la transmisión glutamatérgica, dopaminérgica y GABAérgica (Vanderschuren & Everitt, 2005; Torregrossa, Quinn & Taylor, 2008) debido a la plasticidad en estos sistemas de neurotransmisión dados por el consumo de sustancias adictivas, se ha reportado que esta plasticidad es la base del sostenimiento de la conducta adictiva (Nestler, 2005; Koob & Volkow, 2010). Finalmente, la comunicación entre estas regiones del cerebro está dada por diversos neurotransmisores entre los que se encuentra la dopamina (DA), glutamato (Glu), acetilcolina (ACh) y serotonina (5-HT) (Mansvelder & McGehee, 2002).

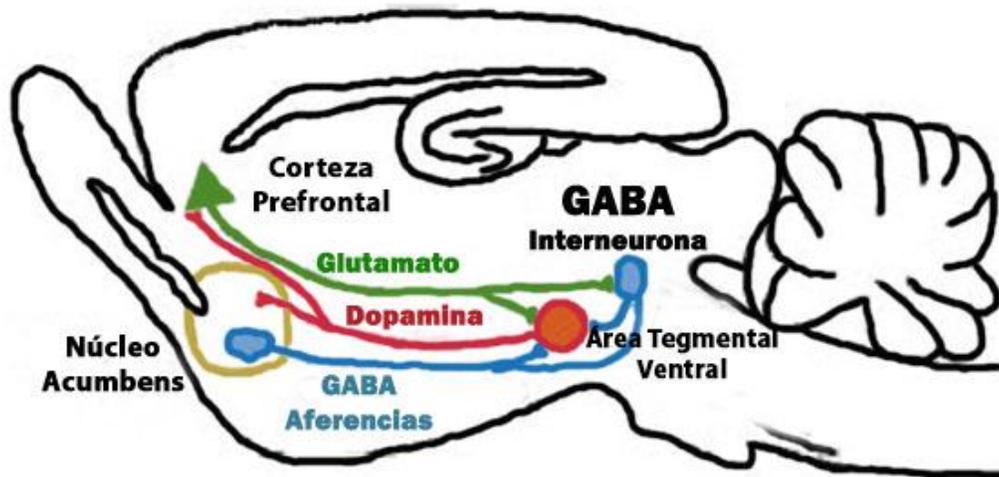


Figura 1. Estructuras implicadas en el sistema de recompensa, así como entradas dopaminérgicas, GABAérgicas y glutamatérgicas en el Área tegmental ventral, Núcleo acumbens y Corteza prefrontal. Imagen tomada y editada de (Mansvelder & McGehee, 2002).

1.2. FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA DE LA NICOTINA

La Nicotina, es uno de los alcaloides encontrados en las hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum*), originaria del continente americano e introducida a el resto del mundo por colonizadores españoles y portugueses (Hammond, 2009). Fue aislada por Posselt & Reiman en 1828 quienes describieron que constituye aproximadamente el 5% del peso seco total de las hojas de la planta de tabaco (Hibb & Zambon, 2012).

La nicotina ($C_{10}H_{14}N_2$), es una base incolora volátil que se vuelve color pardo y adquiere un olor característico al exponerse al aire (Hibb & Zambon, 2012) es soluble en agua y lípidos aunque su capacidad para atravesar las membranas celulares es dependiente del pH. Se considera a la nicotina como el componente psicoactivo principal del tabaco (Yildiz, 2004).

La nicotina es una sustancia que puede ser absorbida a través de la piel, pulmón, cavidad oral, vejiga y tracto gastrointestinal (Yildiz, 2004), aunque es absorbida principalmente a través de los pulmones y en menor medida en la mucosa bucal y piel siendo la absorción dependiente del pH (Benowitz, 1986). Sin embargo, una vez que la nicotina llega a las membranas de los alveolos pulmonares es absorbida de manera rápida (80 a 90%) independientemente del pH (Redolar, 2008). Se ha reportado que en personas que inhalan el humo del tabaco de manera indirecta (fumadores pasivos) los niveles de nicotina en plasma oscilan alrededor de 2.5 a 8.0 ng/ml en tanto que personas fumadoras los niveles alcanzan de 30-40 ng/ml de nicotina (Yildiz, 2004). Actualmente en el mercado mundial la mayoría de los cigarrillos contienen al menos 10 miligramos (mg) de nicotina, por lo que al inhalar el humo del tabaco, el fumador ingiere en promedio de 1 a 2 mg de nicotina por cigarrillo y 0.6 mg por cigarrillo light (Redolar, 2008). Por lo que fumar, es la forma más eficiente en que la nicotina llega al cerebro, una vez fumado el cigarrillo tarda entre 10-20 segundos en llegar a su sitio de acción (Le, 2003) por lo que después de su inhalación los niveles cerebrales suben para posteriormente declinar conforme la nicotina es distribuida hacia el músculo esquelético y tejidos como: bazo, riñón e hígado (Redolar, 2008). La nicotina

comienza su acción una vez que el tabaco es fumado, las partículas de humo son transportadas a los pulmones donde son absorbidas rápidamente, posteriormente entran en la circulación arterial moviéndose rápidamente hacia el cerebro y glándulas adrenales resultando en la liberación de epinefrina generando inicialmente una sensación intensa de adrenalina (“*rush*”) la cual provoca en primera instancia una descarga de glucosa, así como aumento en la presión arterial, respiración y ritmo cardiaco (Benowitz, 2008).

Finalmente, una vez dentro del organismo la vida media de la nicotina varía de una a cuatro horas, eliminándose a través de diferentes vías como: heces, bilis, saliva, jugo gástrico, sudor, leche materna y orina; siendo el 7% excretada a través de esta última, aunque la mayor parte es metabolizada en el hígado transformándose en cotinina (Redolar, 2008).

1.3. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA NICOTINA

Se considera que la nicotina actúa como un análogo o agonista de la acetilcolina (Laviolette & Van der Kooy, 2004) debido a que es capaz de unirse con una alta afinidad al receptor nicotínico. Como se mencionó anteriormente, una vez que la nicotina llega al cerebro esta se une a receptores colinérgicos nicotínicos los cuales se encuentran distribuidos en distintas regiones del cerebro (Tabla 1), la mayoría tiene una localización presináptica donde modula la liberación de neurotransmisores como GABA, glutamato, dopamina, serotonina, norepinefrina y acetilcolina), aunque también pueden encontrarse algunos receptores post-sinápticos donde despolarizan a la neurona aumentando la tasa de disparo contribuyendo en la potenciación a largo plazo (Colombo, Mazzo, Pistillo & Gotti, 2013). Este receptor nicotínico está compuesto por cinco subunidades (pentamérico) tres subunidades alfa y dos beta. Estas subunidades pueden formar pentámeros homoméricos (formado por cinco subunidades iguales, por ejemplo: α_7) o pentámeros heteroméricos (formado por combinaciones de subunidades alfa y beta) (Colombo et al., 2013).

Hasta el momento se han identificado en mamíferos diferentes tipos de subunidades que van de α_2 - α_{10} y tres subunidades β que van de β_2 a β_4 (Benowitz, Hukkanen & Jacob, 2009). Entre los más abundantes en el cerebro humano se encuentran los $\alpha_4\beta_2$, $\alpha_3\beta_4$ y α_7 (Dani & De Biasi, 2001). Siendo el subtipo $\alpha_4\beta_2$ el que ha sido asociado con la dependencia a la nicotina (Benowitz et al., 2009). Sin embargo, algunos subtipos como el $\alpha_4\beta_2$ y $\alpha_3\beta_4$ también pueden contener la subunidad α_5 , cuya presencia probablemente aumenta la desensibilización del receptor y permeabilidad al calcio, lo que se asocia con un mayor riesgo de dependencia a la nicotina (Fucile, 2004; Gotti, Moretti, Gaimarri, Zanardi, Clementi. & Zoli, 2007; Improgo, Scofield, Tapper & Gardner, 2010).

TABLA 1
Distribución de subtipos de receptores nAChRs en el cerebro. Tomado de Vieyra-Reyes, 2008.

ÁREA CEREBRAL	SUBUNIDADES
Corteza cerebral	$\alpha_7, \alpha_4\beta_2, \alpha_5$
Hipocampo	$\alpha_7, \alpha_4\beta_2, \alpha_4\beta_2\alpha_5$
Cuerpo estriado	$\alpha_3\beta_4, \alpha_4\beta_2, \alpha_6\beta_2, \alpha_4\alpha_5\beta_2, \alpha_6$
Núcleo del Rafé Dorsal	$\alpha_7, \alpha_4\beta_2$
Hábenula	$\alpha_3\beta_4$
Locus coeruleus	$\alpha_3\beta_4$
Cerebelo	$\alpha_3\beta_4$
Núcleo accumbens	$\alpha_4\beta_2, \alpha_6\beta_2$
Núcleo interpenduncular	$\alpha_3\beta_4$
Hipotálamo	α_7
Septum	α_7
Substancia negra	$\alpha_4\beta_2, \alpha_6\beta_2$
Tracto óptico	$\alpha_3\beta_4$

La unión de la nicotina al receptor colinérgico nicotínico perteneciente a la familia de receptores ionotrópicos operados por ligando, actúan regulando directamente la apertura del canal (Dani & De Biasi, 2001) produciendo una respuesta casi inmediata (Hurley, Taylor & Yousef, 2012), permitiendo la entrada de sodio o calcio que puede finalizar en la liberación de neurotransmisores.

Como consecuencia del acoplamiento de nicotina o acetilcolina se genera una modificación del estado funcional del receptor, es decir, que puede pasar de estar abierto a cerrado o desensibilizado (Govind, Vezina & Green, 2009) por lo que en un estado de reposo, el receptor se encuentra en un estado conformacional denominado *cerrado*, en donde los sitios de unión al ligando se encuentran disponibles. Posteriormente con la entrada de nicotina al cerebro, esta se une a los sitios de acción en el receptor, estos son activados rápidamente de manera que el canal se abre permitiendo la entrada de cationes, en este momento el receptor se encuentra en un estado conformacional *abierto*.

Una vez abierto el canal, la apertura de los canales iónicos induce cambios en el potencial de membrana que conduce a la generación del potencial de acción. Una vez generado este potencial de acción, se promueve la liberación de diversos neurotransmisores, entre ellos la dopamina, que constituye el sustrato para producir los efectos reforzantes de la nicotina (Pidoplichko et al., 2004).

Finalmente, una vez que el receptor permanece ocupado por la nicotina, la activación que se presentó inicialmente es seguida por un tercer cambio conformacional, es decir; que el receptor se encuentra en un estado de *desensibilización*, en el cual la nicotina sigue unida al receptor, sin embargo, el canal se encuentra cerrado, lo que provoca que este no pueda ser activado nuevamente (Govind et al., 2009).

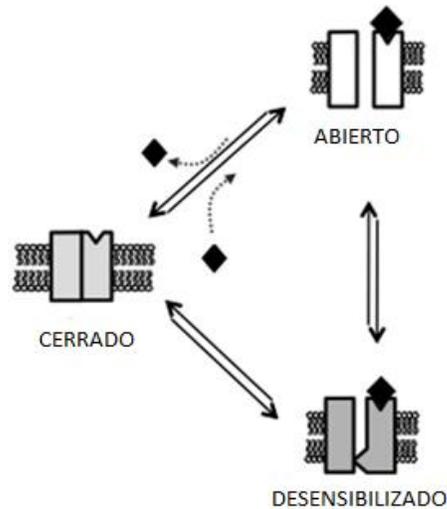


Figura 2. Estados funcionales del receptor colinérgico ionotrópico una vez que la nicotina llega a su sitio de unión. Tomada y modificada de Hurst, Rollema & Bertrand, 2013.

La liberación de dopamina en el área tegmental ventral (VTA) es regulada a través de proyecciones glutamatérgicas excitatorias las cuales provienen del núcleo acumbens (NAcc) y corteza prefrontal (PFC) e interneuronas GABAérgicas inhibitorias localizadas en el área tegmental ventral y núcleo acumbens. Tanto proyecciones glutamatérgicas como GABAérgicas poseen receptores nAChRs que responden a la entrada de nicotina (Pierce & Kumaresan, 2006) los cuales son importantes para el efecto reforzante de la droga (Watkins, Epping-Jordan, Koob & Markou, 1999).

Como se mencionó anteriormente, como consecuencia de la entrada de nicotina en el cerebro, se tiene una activación de receptores nAChRs en terminales glutamatérgicas que excitan proyecciones dopaminérgicas en el núcleo acumbens y la corteza prefrontal promoviendo la liberación de dopamina. Simultáneamente, receptores nAChRs son activados en las terminales GABAérgicas las cuales ejercen en un primer momento actividad de tipo inhibitorio. Sin embargo, con la rápida desensibilización de los receptores $\alpha_4\beta_2$ situados en neuronas GABAérgicas así como de los receptores α_7 situados en terminales glutamatérgicas, se tiene como consecuencia decremento en la

inhibición y aumento en la excitación de neuronas dopaminérgicas en el área tegmental ventral (Lavolette & Van der Kooy, 2004; Benowitz, 2008). Adicionalmente, proyecciones eferentes provenientes de neuronas colinérgicas y glutamatérgicas localizadas en el núcleo tegmental pedúnculo pontino (TPPg) y núcleo tegmental laterodorsal (LDTg) modulan de forma tardía la actividad de neuronas dopaminérgicas en el VTA, generando un aumento sostenido en la liberación de dopamina en el NAcc.

Actualmente, se sabe que ambos sitios, el núcleo tegmental pedúnculo pontino (TPPg) y el núcleo tegmental laterodorsal (LDTg) han sido asociados con los efectos de la nicotina. Por ejemplo, en un estudio se encontró que tras recibir una infusión intra-PPTg con un antagonista nicotínico (DH β E) o con agonistas GABAérgicos (mucimol y baclofen), el número respuestas a la palanca (conducta de búsqueda de la droga) se ve disminuido en ratas que habían sido entrenadas a auto-administrarse nicotina (Corrigall, Coen, Zhang & Adamson, 2001). De igual manera, ratas entrenadas a auto-administrarse nicotina, que posteriormente fueron sometidas a lesión del núcleo tegmental pedúnculo pontino (TPPg) y núcleo tegmental laterodorsal (LDTg) a través de una infusión con ácido iboténico mostraron una disminución en la conducta de auto-administración en comparación con ratas que no fueron sometidas a lesión en esas áreas (Lança, Adamson, Coen, Chow & Corrigall, 2000).

En trabajos realizados por Lodge y Grace (2006), en el que se administró intra-LDTg un agonista GABAérgico (muscimol y baclofen) así como del agonista muscarínico (carbacol) dieron como resultado una disminución en el patrón de activación de neuronas dopaminérgicas en el VTA. Contrariamente, al administrar un antagonista del receptor muscarínico (escopolamina) se observó un aumento significativo en la activación de neuronas dopaminérgicas (Lodge & Grace, 2006). Los datos descritos anteriormente sugieren que tanto el PPTg, como el LDTg, juegan un papel importante en la modulación del sistema dopaminérgico en el VTA (Lodge & Grace, 2006).

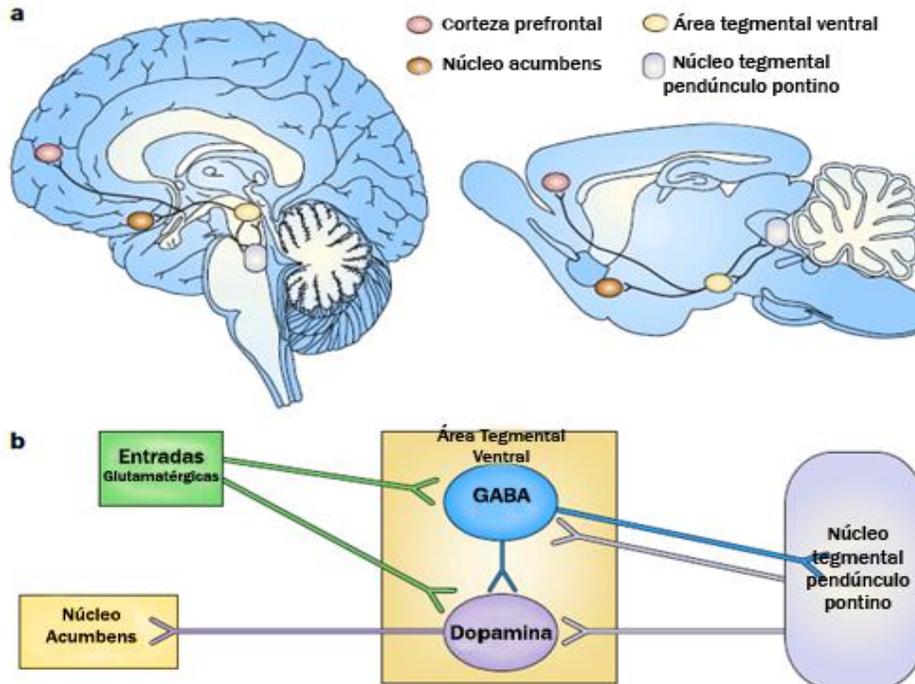


Figura 3. a) Esquemas de encéfalos con cortes sagitales que muestran las vías implicadas en la activación por la nicotina, asociadas con la recompensa de la droga. b) Muestra las poblaciones de Dopamina y GABA en el área tegmental ventral, así como proyecciones de neuronas GABAérgicas descendentes hacia el núcleo pedúnculo pontino implicadas en la inhibición de neuronas dopaminérgicas en el área tegmental ventral. Tomado y modificado de Laviolette & Van der Kooy, 2004.

1.4. EFECTOS DEL CONSUMO DE NICOTINA

La nicotina, al igual que otras drogas de abuso, presenta un perfil farmacológico complejo, debido a que es capaz de producir efectos tanto reforzantes como aversivos. En roedores se ha descrito una variedad de efectos farmacológicos. A nivel periférico se sabe que puede aumentar el ritmo cardiaco, la contractibilidad o aumentar la presión sanguínea. A dosis altas, pueden presentarse temblores, incoordinación motora y/o crisis convulsivas. Asimismo, se ha descrito que al administrar una dosis alta en roedores éstos pueden llegar a la muerte, la cual es causada por insuficiencia respiratoria debido a una parálisis a

nivel central y al bloqueo de músculos encargados de la respiración (Redolar, 2008). En humanos, los efectos negativos del abuso en el consumo de tabaco están asociados con distintos tipos de cáncer (pulmón, esófago, laringe) (Grief, 2011), enfermedades pulmonares como bronquitis y enfisema, así como con el aumento del estrés oxidativo que genera radicales libres, los cuales afectan tejidos como pulmón e hígado (El-Sokkary, Cuzzocrea & Reiter, 2007), además de estar asociado con la patogénesis de diversas enfermedades como diabetes y enfermedades cardiovasculares (Grief, 2011). Aunado a los efectos mencionados anteriormente, se sabe que el consumo de tabaco está asociado con altas tasas de morbilidad psiquiátricas (Lasser, Boyd, Woolhandler, Himmelstein, McCormick. & Bor; 2000; Kalman, Morissette & George, 2005; Benowitz et al., 2009). Por ejemplo, los pacientes con trastorno de déficit de atención con hiperactividad (ADHD), muestran tasas altas en el consumo de tabaco, menor edad en el inicio de consumo de tabaco y mayor dificultad para dejar de fumar (Bron, Bijlenga, Kasander, Spuijbroek, Beekman. & Kooij, 2013). En adultos, los índices de depresión son más altos en personas dependientes al tabaco, además de que se sabe que en personas que han tenido más de un episodio de depresión, el dejar de fumar puede aumentar el riesgo de presentar un nuevo episodio depresivo (Covey, Glassman & Stetner, 1997; Glassman, Covey, Stetner & Rivelli, 2001). De igual manera, el consumo de tabaco en personas adultas aumenta el riesgo de desarrollar trastornos de ansiedad en el futuro. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, la ansiedad puede estar asociada con una mayor severidad de los síntomas del síndrome de abstinencia (Spinella, 2005; Lloyd & Williams, 2000) que pueden estar acompañados por niveles más altos de impulsividad, por lo que es difícil determinar si la impulsividad lleva a las personas a consumir tabaco o si consumir tabaco conduce a la impulsividad (Mitchell, 1999; Spinella, 2005).

Los estudios de neuroimagen funcional proporcionan información esencial acerca de las áreas del cerebro implicadas en los efectos gratificantes de la nicotina y su relación con los efectos cognitivos (Vossel, Thiel & Fink, 2008; Newhouse, Potter, Dumas & Thiel, 2011). La mejora en estos aspectos positivos dados por la nicotina son factores importantes que contribuyen a la iniciación y

mantenimiento del consumo de tabaco (Levin, McClernon & Rezvani, 2006). Se ha descrito que la nicotina refuerza positivamente el consumo de tabaco mediante la mejora de funciones cognitivas como memoria y atención (Poltavski & Petros, 2006; Myers, Taylor, Moolchan & Heishman, 2007). Sin embargo, se ha reportado que estos efectos positivos en el rendimiento de tareas de memoria y atención se ven disminuidos durante la abstinencia a la nicotina (Hendricks, Ditre, Drobos & Brando, 2006). Finalmente se han descritos otros efectos positivos entre los que se encuentran euforia, aumento de energía y activación (Redolar, 2008). Adicionalmente, la mejora en el estado de ánimo puede deberse al efecto de la droga en el alivio de los síntomas de abstinencia lo que reduce los niveles de ansiedad y estrés (Lloyd & Williams, 2000).

1.5. FISIOLÓGÍA MATERNO - FETAL

En el humano, el embarazo es un proceso cooperativo entre la madre y el feto en el cual la placenta actúa como mediador, ya que proporciona el vínculo principal entre ambos (Douglas, 2011).

Durante el embarazo, el feto obtiene nutrientes de la madre a través de la placenta, la cual es importante para el desarrollo y crecimiento óptimo dentro del útero. Aquí el feto se encuentra en un entorno constante en el que existen cambios mínimos de temperatura, suministro de glucosa, intercambio y excreción de gases y oxígeno (Hahn, Barth, Graf, Engelmann, Beslagic, Reul, Holsboer, Dohr. & Desoye, 1999), siendo el cordón umbilical el órgano que comunica al feto con la placenta y el medio por el cual se limpia y oxigena la sangre fetal.

Existe evidencia que indica que tanto el peso de la madre como el tipo de alimentación está relacionado estrechamente con la superficie placentaria, el adecuado aporte de nutrientes, el desarrollo fetal intrauterino y finalmente con el peso al nacer (Barke, Lampl, Roseboom & Winder, 2012). Sin embargo, no solo el tipo de alimentación interviene en complicaciones durante etapas postnatales ya

que se existe evidencia de la importancia que tienen los glucocorticoides para el crecimiento y desarrollo de los órganos y sistemas, por lo que el exceso de los mismos puede llegar a afectar de forma negativa el desarrollo óptimo fetal (du Plessis, 2009). El efecto negativo de los glucocorticoides es debido a que inhiben el transporte de glucosa en una variedad de tejidos periféricos, tales como el músculo esquelético, adipocitos y células endoteliales (Hahn et al., 1999). Estas alteraciones existentes tanto en células como en la placenta pueden causar secuelas graves que van desde alteraciones en el desarrollo cerebral así como causar la muerte a consecuencia del ineficiente crecimiento placentario (Barker, Lampl, Roseboom & Winder, 2012).

Finalmente, factores de riesgo dados por la exposición a agentes tóxicos los cuales son capaces de atravesar de manera eficiente la membrana placentaria por difusión pasiva (Veid, Karttunen, Myöhänen, Myllynen, Auriola, Halonen. & Vähäkangas, 2011) han sido de gran importancia para el adecuado desarrollo fetal. Aunque es importante mencionar que los efectos dependerán de la velocidad, el grado de transferencia, características fisicoquímicas y estructurales del fármaco (Myren, Mose, Mathiesen. & Knudsen, 2007). Debido a ello, es importante considerar el uso o abuso de sustancias como drogas o la exposición a agentes tóxicos durante el embarazo (Veid et al., 2011).

1.6. DESARROLLO CEREBRAL

Con el fin de comprender los efectos de la exposición prenatal a la nicotina es necesario describir los procesos de desarrollo del sistema nervioso central, debido a que estos se verán afectados dependiendo de la dosis, el momento de exposición a la droga y la frecuencia con que sea administrada (Myren et al., 2007).

El uso de modelos animales para el estudio de los efectos biológicos y de comportamiento dados por la administración de nicotina en distintas etapas de desarrollo, resulta de gran importancia. Los estudios realizados en modelos

animales (ratas) aportan evidencia de los efectos de la exposición de nicotina aguda y crónica en distintas etapas de desarrollo, permitiendo equiparar los efectos en los modelos animales al humano (Cohen & George, 2013). En general, la secuencia de eventos durante el desarrollo es comparable entre la rata y el humano, las diferencias existentes radican en las escalas de tiempo (Rice & Barone, 2000).

El desarrollo del sistema nervioso central en la rata está dado por la neurulación o formación del tubo neural, producción neuronal, diferenciación neuronal, sinaptogénesis, mielinización y apoptosis. Estos periodos comienzan aproximadamente en el día prenatal 11.5 con la generación de las primeras neuronas corticales, seguida por la producción a la gran escala y diferenciación neuronal dada a partir de la segunda semana que continua hasta después del nacimiento (Clancy, Darlington & Finlay, 2001). Por otro lado, el proceso de sinaptogénesis se lleva a cabo alrededor de las tres primeras semanas de vida, observándose en la primera semana una baja sinaptogénesis en la corteza somatosensorial, la cual aumenta hacia la primera semana postnatal (Clancy, Finlay, Darlington & Anand, 2007).

Posteriormente, ocurren procesos de migración neuronal hacia la neocorteza y cuerpo estriado, si bien después de este proceso existe muerte neuronal (Bear, Connors & Paradiso, 2007; Semple, Blomgren, Gimlin, Ferriero & Noble-Haeusslein, 2013) algunas neuronas piramidales extienden su axón y precursores como el de interneuronas olfativas continúa durante el periodo postnatal (Guo & Anton, 2014). Finalmente, la mielinización y aumento del volumen cerebral ocurre alrededor del día postnatal 20 en el cual se ha alcanzado el 90% de su volumen total. Asimismo el proceso de mielinización continúa hasta el periodo postnatal alcanzando su pico máximo entre los días 30-40 (Clancy et al., 2007).

Por otra parte, el desarrollo del SNC humano comienza a partir de la tercera semana de gestación con la inducción neural (Mancini, Milh, Livet & Chabrol, 2009). Posteriormente células situadas en los bordes del ectodermo darán lugar al tubo neural que posteriormente a partir de las crestas neurales dará origen al sistema nervioso periférico y autónomo, células de la pia madre y aracnoides, melanocitos y algunos elementos del esqueleto craneofacial (Mancini, Milh, Livet. & Chabrol, 2009).

Posteriormente, con la formación y cierre del tubo neural producida en el primer mes de embarazo, entre las semanas 3-4 de gestación (Bassuk & Kibar, 2009) se dará paso a la formación de ventrículos, en tanto que el tejido que los rodea formará las tres partes principales del encéfalo: prosencéfalo, mesencéfalo y rombencéfalo, estas divisiones nuevamente se subdividirán para formar finalmente el telencéfalo, diencefalo, mesencéfalo, metencéfalo y mielencéfalo (Carlson, 2007, Mancini et al., 2009). Estas estructuras están alineadas a lo largo del eje rostro-caudal del embrión que establecen una organización primaria en el desarrollo del sistema nervioso central (Stiles & Jernigan, 2010). Al final del periodo embrionario, las estructuras rudimentarias del cerebro se han establecido y los sistemas periférico y central se han definido.

Posteriormente, este proceso es seguido por la generación de neuronas aproximadamente en el día 42 después de la concepción (Stiles & Jernigan, 2010) y desarrollo fetal que se extiende hasta el final de la gestación existiendo un crecimiento rápido y elaborado de estructuras corticales y subcorticales. A medida que se producen neuronas y estas van en aumento, las células que se han generado por medio de la división celular comienzan la etapa de migración llevada a cabo entre el 3^{er} y el 5^{to} mes de gestación (Mancini et al., 2009). Una vez que han migrado, estas se alinean con otras neuronas que provienen de la misma zona, conociéndose esta etapa como agrupamiento teniendo como objetivo formar conexiones con otras neuronas, estableciendo redes neuronales, observándose las primeras sinapsis a partir de la 23^a semana de gestación y culminando hacia la adolescencia (Garner et al., 2002). Finalmente, otro proceso, la mielinización, se

lleva a cabo a partir de la 12^a semana *in utero* en el humano y continua hasta etapas postnatales con la mielinización de los hemisferios cerebrales (Mancini et al., 2009), observándose el aumento de volumen cerebral (aproximadamente 4 veces su tamaño inicial) entre el nacimiento y la vida adulta alcanzando el 90% de su volumen total a la edad de 6 años (Stiles & Jernigan, 2010).

1.7. PERIODO CRÍTICO

En el desarrollo tanto del humano como de la rata se presentan una serie de eventos que afectan y determinan procesos subsecuentes, se sabe que en las etapas de desarrollo temprano se presentan periodos en los cuales existe una mayor vulnerabilidad a sufrir daños irreversibles, así como etapas en las cuales la vulnerabilidad es más baja. A estos periodos de mayor vulnerabilidad se les ha denominado “periodos críticos” (Morgane et al., 1993); concepto que surgió con estudios realizados en el campo de la embriología, etología y neurología (Rice & Barone, 2000; Bailey, 2002; Bear et al., 2007).

En el humano, un periodo crítico importante en el desarrollo cerebral y neurosensorial se produce durante los primeros tres meses de vida, por lo que alteraciones, daños o privaciones que puedan presentarse durante estos primeros meses puede crear déficits permanentes (Marshall, 2011) en distintos órganos y sistemas (Cintra & Galván en Salas, 1991). La duración de estos periodos críticos es distinta en cada especie, así como en el humano comprende los primeros tres meses de vida, en la rata abarca las primeras tres semanas postnatales, semanas que son determinantes para el desarrollo y funcionamiento adecuado de órganos y sistemas (Escobar & Salas en Salas, 1991).

Diversas investigaciones se han llevado a cabo para estudiar los efectos que se presentan durante estas ventanas de tiempo importantes para el desarrollo. Uno de los estudios pioneros en este ámbito fue realizado por Spemman en 1938 el cual describía la existencia de periodos críticos en células embrionarias. Estas células tenían una característica especial, es decir, tenían el

potencial de poder adaptarse para formar una variedad de órganos y sistemas (Bailey, 2002). Spemman demostró que el trasplante de una célula embrionaria en una etapa temprana de un sitio a otro originaba que el tejido “donante” asumiera las características del “hospedador”, esto solo ocurría cuando se realizaba el trasplante en un periodo y sitio específico (Rice & Barone, 2000; Bailey, 2002; Bear et al. 2007).

Posteriormente, el concepto de periodo crítico descrito por Spemman fue retomado a mediados de la década de 1930 por el etólogo Konrad Lorenz, sus estudios demostraban que los patos pequeños se apegaban socialmente a la madre de una forma habitual. Sin embargo, en ausencia de ella el pato establecía vínculos con una gran variedad de objetos móviles, esto durante un periodo específico en el desarrollo (los dos primeros días después de la eclosión). Una vez que se establecía la impronta, el animal seguía al objeto o persona como si se tratara de la madre, a este periodo de tiempo, Lorenz lo llamó “periodo crítico del vínculo social” (Bailey, 2002). Los resultados obtenidos por Lorenz determinaban la existencia de periodos críticos en patrones de comportamiento, con lo que sus estudios fueron la base hacia futuras investigaciones en donde no solo se hablaba de periodos críticos desde un enfoque embriológico y social.

Otro estudio realizado por Doobing en 1970 demuestra la importancia de la nutrición para el adecuado desarrollo del sistema nervioso central. En sus estudios se describe a los “periodos críticos” como ventanas temporales específicas en las que los procesos de desarrollo son vulnerables a ser modificados ya sea de manera endógena (hormonal) y/o exógena (malnutrición) así como el consumo de sustancias ajenas al cuerpo. Aunque los estudios de Doobing señalaron la importancia de la nutrición en etapas de desarrollo postnatal temprano. Otros estudios consideran la importancia de la desnutrición en etapas de desarrollo pre y postnatal. Se observó que animales expuestos a una mala nutrición durante etapas prenatales aumentan el grado de desnutrición en etapas postnatales, generándose un retardo en la maduración, observándose defectos sobre el

desarrollo de reflejos tales como: reflejo de sobresalto, enderezamiento y evitación (Morgane et al., 1993).

Los estudios mencionados anteriormente demuestran la importancia que tienen los “periodos críticos” en el adecuado desarrollo del sistema nervioso central, ya que alteraciones que puedan darse por factores endógenos o exógenos pueden afectar de manera significativa el adecuado desarrollo en etapas posteriores.

1.8. EXPOSICIÓN A LA NICOTINA EN ETAPA PRENATAL.

La exposición prenatal al humo del tabaco es un importante factor de riesgo para los efectos adversos en los hijos de madres que fuman durante el embarazo. Se sabe que el consumo de tabaco durante esta etapa genera efectos adversos entre los que se incluyen; restricción del crecimiento fetal, anomalías en el crecimiento placentario, parto prematuro, muerte fetal, muerte súbita del lactante y niños con bajo peso al nacer (Phelan, 2014). Otros estudios han reportado que hijos de madres que fumaron durante el embarazo muestran conductas de hiperactividad, comportamiento agresivo y comportamiento impulsivo, además de puntuar bajos en pruebas de atención selectiva y control inhibitorio (Fried, Watkinson & Gray, 2003; Cornelius & Day, 2009). Finalmente se ha asociado el consumo de tabaco durante el embarazo con mayor probabilidad de consumo de sustancias adictivas en los hijos en etapas posteriores (Pauly & Slotkin, 2008; Winzer-Serhan, 2008; Dwyer et al., 2009).

Por otra parte, el estudio de los efectos de la exposición prenatal a la nicotina en modelos animales resulta de gran importancia debido al papel que juega la acetilcolina como factor crítico en etapas tempranas de desarrollo (Slotkin et al., 1986; Navarro, Seidler, Eylers, Baker, Dobbins, Lappi. & Slotkin, 1989; Slotkin, 2004) en la excitabilidad neuronal, señalización, migración neuronal y maduración sináptica (Heath & Picciotto, 2009; Lozada, Wang, Gounko, Massey, Duan, Liu. & Berg, 2012; Picciotto, Higley & Mineur, 2012) y al efecto neurotóxico

de la nicotina en éste periodo crítico de desarrollo (Levin & Slotkin, 1998; Roy, Andrews, Seidler & Slotkin, 1998; Roy, Seidler & Slotkin, 2002).

Se ha observado que la nicotina administrada diariamente en ratas gestantes induce en las crías retraso en el crecimiento (Ajarem & Ahmad, 1998; LeSage, Gustaf, Dufek & Pentel, 2006) hiperactividad (Vaglenova, Birru, Pandiella & Breese, 2004; Paz, Barsness, Martenson, Tanner & Allan, 2007), mala adaptación al ambiente, es decir, un aumento en el nivel de ansiedad y déficits en tareas cognitivas (Vaglenova et al., 2004).

Se sabe que la administración de nicotina durante la gestación conduce a una desregulación en el desarrollo neurológico que puede provocar cambios neuroconductuales duraderos lo que implica un mayor riesgo al abuso de sustancias en etapas posteriores (Abreu-Villaça et al., 2004; Khanna et al., 2012). Varios estudios han reportado que ante la exposición crónica a la nicotina en etapa prenatal se observa un aumento en la densidad de receptores nAChR (Eriksson, Ankarberg & Fredriksson, 2000; Abreu-Villaça et al., 2004) específicamente los subtipos $\alpha_4\beta_2$ (Huang & Winzer-Serhan, 2006; Huang, Abbott & Winzer-Serhan, 2007; Lv, Mao, Zhu, Zhang, Pengpeng, Xu, Liu, Zhang. & Xu, 2008) que están asociados estrechamente con el efecto adictivo de la nicotina (Berrendero, Robledo, Trigo, Martín-García & Maldonado, 2010) y que están involucrados en la conducta de búsqueda de la droga en etapas posteriores. De acuerdo con lo mencionado anteriormente, pocos estudios son los que han utilizado modelos de sensibilización en roedores. Modelo que se considera útil para evaluar aspectos de búsqueda de la droga, comportamientos asociados a la dependencia y recaída (Robinson & Berridge, 2003) así como efectos a largo plazo ante la re-exposición al fármaco.

Actualmente, los estudios enfocados en los efectos de la administración prenatal de nicotina en modelos de sensibilización son escasos, la mayoría de ellos están enfocados a medir actividad locomotora espontánea bajo la hipótesis de que los hijos de adictos muestran conductas de hiperactividad (Paz et al.,

2007; Zhu, Zhang, Xu, Spencer, Biederman. & Bhide, 2012), ansiedad y menor adaptación a ambientes nuevos (LeSage, Gustaf, Dufek. & Pentel, 2006). Sin embargo, los pocos estudios que han medido los efectos de la actividad locomotora con dosis de nicotina en etapas postnatales han descrito datos contradictorios (Paz et al., 2007; Franke, Belluzzi & Leslie, 2007).

LeSage y sus colaboradores (2006) reportan que, la actividad locomotora inducida por la administración de nicotina a una dosis de 1.0 mg/kg i.p. no muestra aumento en la actividad locomotora medida en el día postnatal 22. Contrariamente, en un estudio realizado por Shacka, Fennell y Robinson (1997) muestra que, tras la exposición a la nicotina (2.0 mg/Kg/día s.c.) en etapa prenatal, se observa un aumento en la actividad locomotora inducida por la nicotina (1.0 mg/kg i.p.) en el día postnatal 14, ese aumento en la actividad no se muestra en crías que fueron tratadas con solución salina, lo que sugiere que la exposición a la nicotina durante la gestación, facilita en etapas posteriores la inducción a la sensibilización locomotora. En otro estudio realizado por Sobrian, Johnston, Wright, Kuhn y Ameis (2008), se reportó que la exposición prenatal a dosis altas de nicotina (5.0 mg/kg/día) o a la combinación nicotina con cocaína (5.0 mg/kg/día de Nic + 20 mg/kg/día de COC) produce cambios persistentes en la inducción de la sensibilización locomotora, mostrándose únicamente aumento de la actividad en los grupos en los cuales las crías estuvieron expuestas a dosis altas de nicotina. Aunado a esto, otro estudio demuestra que crías expuestas prenatalmente a la nicotina (3.0 mg/kg/día), mostraron un aumento significativo en la actividad locomotora inducida por la cocaína (15 mg/kg/día i.p.) durante la adolescencia, en comparación con los grupos tratados prenatalmente con solución salina (Franke et al., 2007). Los estudios descritos anteriormente sugieren que la exposición a la nicotina en etapa prenatal puede provocar cambios a largo plazo, en donde el primer contacto con la droga en etapas posteriores puede llevar a un mayor riesgo a la dependencia y abuso en el consumo de drogas, ya que la intensidad de la respuesta a la nicotina estaría reflejando la remodelación neuroanatómica y neuroquímica producida por la exposición a la nicotina en periodos críticos de desarrollo (Abreu-Villaça et al., 2004; Sobrian et al., 2008).

CAPÍTULO 2: PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA

2.1. Justificación y planteamiento del problema

Dado que el consumo de tabaco sigue siendo la causa principal de muerte prevenible a nivel mundial y que el 64% del total de las muertes corresponde a mujeres entre las que se encuentran mujeres embarazadas, aunado a que los estudios realizados en ratas sugieren que los efectos de la exposición prenatal al componente psicoactivo del tabaco, la nicotina, genera cambios en el desarrollo del sistema nervioso, debido a que es capaz de alterar procesos llevados a cabo en etapas tempranas de desarrollo (excitabilidad neuronal, señalización, migración neuronal y maduración sináptica) aumentando la probabilidad de riesgo para una posterior conducta adictiva. Es por ello que el objetivo del presente trabajo fue caracterizar los efectos de la exposición prenatal a la nicotina sobre la sensibilización locomotora en la rata. Debido a que resulta importante conocer los efectos reforzantes de la nicotina en animales que fueron expuestos prenatalmente a la droga. Se sabe que la administración de nicotina u otras drogas psicoestimulantes genera aumento gradual de la actividad locomotora (sensibilización) en la fase de inducción (eventos inmediatos dados por la administración de la droga) y expresión (consecuencias a largo plazo de los eventos iniciales), un fenómeno relacionado con las propiedades reforzantes de la droga (nicotina). Finalmente, el estudio de la exposición prenatal a la nicotina sobre la sensibilización locomotora es importante debido a que si los efectos observados en ratas tiene efectos similares en humanos, entonces una mayor sensibilidad a la nicotina en etapas posteriores explicaría la conducta de fumar en la adolescencia o adultez, reflejando los cambios inducidos como consecuencia de la exposición prenatal a la nicotina.

2.2. OBJETIVO GENERAL

Determinar si la exposición de nicotina en etapa pre y postnatal modifica la respuesta en la sensibilización locomotora en ratas.

2.3. OBJETIVOS PARTICULARES

- Caracterizar los efectos de la administración de nicotina pre y postnatal sobre la sensibilización locomotora con tres diferentes dosis de nicotina. (0.4, 0.6 y 0.8 mg/kg i.p.). Se utilizaron estas dosis ya que se consideran óptimas para inducir respuestas de sensibilización locomotora sin ser aversivas para el animal.
- Determinar si existen diferencias entre los efectos de las diferentes dosis de nicotina (0.4, 0.6 y 0.8 mg/kg i.p.) sobre la respuesta en los siguientes patrones conductuales (incoordinación motora, broncoespasmos, tetanización, convulsiones e inmovilidad motora).

2.4. HIPÓTESIS GENERAL

Si la exposición prenatal a la nicotina conduce a una desregulación en el desarrollo neurológico que puede provocar cambios neuroconductuales duraderos asociados con el consumo de drogas lo que implicaría un mayor riesgo al abuso de sustancias en etapas posteriores, entonces en animales expuestos a la nicotina en etapa prenatal se verá facilitada la sensibilización (aumento gradual de la actividad locomotora) conductual en la fase de inducción y expresión de la sensibilización locomotora en comparación con animales que no fueron expuestos a la droga en esta etapa.

2.5. HIPÓTESIS PARTICULARES

- Los animales expuestos prenatalmente a la nicotina, mostrarán diferencias en la inducción y expresión de la sensibilización locomotora en comparación con los animales no expuestos.
- Los animales expuestos a la nicotina prenatalmente, mostrarán efectos distintos en los patrones conductuales (incoordinación motora, broncoespasmos, tetanización, convulsiones e inmovilidad motora) ante la administración postnatal de nicotina, en comparación con los animales no expuestos prenatalmente a la droga.

CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA

3.1. ANIMALES

Todos los procedimientos experimentales se realizaron conforme al comité de ética y cuidado de animales del Instituto Nacional de Psiquiatría.

Obtención de los grupos expuestos prenatalmente a la nicotina (NIC_{-pp})

Se utilizaron un total de 20 ratas hembra de la cepa Wistar y 10 ratas macho los cuales fueron colocados en cajas para el apareamiento (2 ratas hembra y 1 rata macho). Posteriormente, los machos fueron retirados y las ratas preñadas fueron colocadas en cajas individuales. La administración de nicotina se llevó a cabo de forma i.p. (0.4mg/kg) dos semanas antes del apareamiento. Posteriormente se administró únicamente a las hembras, las cuales recibieron una dosis de nicotina disuelta en Buffer fosfato de sodio con un pH entre 7.2 y 7.4 en una concentración de 0.4 mg/kg, i.p. La administración se continuó hasta el destete de las crías en el día postnatal 20, (ya que se ha reportado que los metabolitos de la nicotina pasan a las crías a través de la leche materna (Narayanan, Birru, Vaglenova & Breese, 2002; Wickström, 2007) siendo el día del nacimiento el único en el cuál no recibieron la dosis de nicotina. La dosis anterior imita la cantidad de 5-6 cigarrillos fumados por día, obteniéndose una concentración plasmática aproximada de 2-10 ng/ml (Luck, Nau, Hansen & Steldinger, 1985; Fung & Lau, 1992; Hussein et al. 2007).

Obtención de los grupos control nicotina (NIC)

Se utilizaron un total de 20 ratas hembra de la cepa Wistar y 10 ratas macho los cuales fueron colocados en cajas para el apareamiento (2 ratas hembra y 1 rata macho). Posteriormente, los machos fueron retirados y las ratas preñadas fueron colocadas en cajas individuales. La administración de solución salina se llevó a cabo de forma i.p. dos semanas antes del apareamiento. Posteriormente se administró únicamente a las hembras, las cuales recibieron una inyección diaria de solución salina calculada como peso corporal sobre 100. La administración se

continuó hasta el destete de las crías en el día postnatal 20, siendo el día del nacimiento el único en el cuál no recibieron la administración de solución salina.

Obtención de los grupos control salina (SAL)

Se utilizaron un total de 20 ratas hembra de la cepa Wistar y 10 ratas macho los cuales fueron colocados en cajas para el apareamiento (2 ratas hembra y 1 rata macho). Las ratas preñadas fueron colocadas en cajas individuales y no recibieron ningún tratamiento.

3.2. DROGA

La nicotina (tartrato de nicotina-Sigma Aldrich); se disolvió en Buffer fosfato de sodio con un pH entre 7.2 y 7.4. En una concentración de 0.4, 0.6 y 0.8 mg/Kg. La solución de nicotina se realizó diariamente.

3.3. APARATO

Los efectos de la nicotina sobre la actividad locomotora fueron evaluados individualmente para cada animal en cajas de acrílico transparente (50x50x30 cm) acopladas a una computadora PC. Cada cámara de actividad está rodeada de un arreglo de 16X16 fotoceldas localizadas a 3 cm de la superficie del piso con el fin de registrar la actividad locomotora (OMNIALVA, Instruments, México). Las interrupciones de estas fotoceldas por los movimientos del sujeto se cuantificaron automáticamente por un software OABiomed (1.1) y analizaron posteriormente. La actividad locomotora está definida como las interrupciones de fotoceldas consecutivas. El sistema de registro está compuesto por 6 cajas de evaluación individual.

3.4. PROCEDIMIENTO DE SENSIBILIZACIÓN LOCOMOTORA

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar, con un peso al inicio del experimento de 250-300 g. Las ratas se colocaron en grupos de cuatro a seis sujetos en cajas de acrílico transparente (57 cm X 35 cm X 20 cm) en un cuarto con temperatura controlada ($21 \pm 2^{\circ}\text{C}$), bajo un ciclo luz-oscuridad 12:12 hr (el encendido de la luz fue a las 7:00 AM). Los animales tuvieron acceso a alimento y agua *ad libitum*. Todos los experimentos se realizaron durante la fase de luz del ciclo luz-oscuridad (entre las 9:00 AM y las 6:00 PM).

La sensibilización locomotora a la nicotina se realizó de una manera similar a lo reportado por otros autores (Ksir, Hakan. & Kellar, 1987; Villégier, Blanc, Glowinski & Tassin, 2003; DiFranza & Wellman, 2007). Brevemente, todos los animales se habituaron durante tres sesiones de 30 minutos en las cámaras de actividad antes de que cada procedimiento experimental iniciara con el propósito de homogenizar la actividad locomotora entre los sujetos experimentales.

En cada sesión experimental, los animales de cada grupo experimental recibieron la administración i.p. de un tratamiento específico (0.4, 0.6 y 0.8 mg/Kg), inmediatamente después del tratamiento los animales fueron colocados en las cámaras (actígrafo) para el registro de la actividad locomotora. La actividad locomotora en respuesta al tratamiento se registró por 1 hora. Al concluir cada sesión experimental las ratas fueron retiradas de las cámaras de prueba y colocadas en sus cajas de estancia. Las señales olfativas entre cada uno de los sujetos se evitaron a través de un ventilador ubicado en el cuarto de experimentación, además de que las cajas se asearon con alcohol al 10% al terminar el registro de actividad locomotora de cada rata.

3.5. EXPERIMENTO 1: SENSIBILIZACIÓN DOSIS-RESPUESTA.

Con el fin de describir el perfil temporal del aumento en la actividad locomotora inducido por la administración de nicotina (0.4, 0.6 y 0.8 mg/Kg). Se utilizaron un total de 90 ratas macho distribuidas de la siguiente manera:

Animales expuestos prenatalmente a la nicotina que recibieron nicotina durante el procedimiento de sensibilización locomotora

NIC_{pp}-0.4 (n=10)

NIC_{pp}-0.6 (n=10)

NIC_{pp}-0.8 (n=10)

Animales tratados prenatalmente con solución salina que recibieron nicotina en el procedimiento de sensibilización locomotora

NIC-0.4 (n=10)

NIC-0.6 (n=10)

NIC-0.8 (n=10)

Animales que no recibieron ningún tratamiento prenatal y recibieron solución salina en el procedimiento de sensibilización locomotora

SAL (n=30)

El experimento se dividió en tres fases: Inducción (10 días), Abstinencia (10 días) y Expresión (10 días). El grupo salina (SAL) recibió la administración i.p. de solución salina (peso corporal sobre 100) estéril (NaCl 9%) durante las tres fases del experimento. Los grupos (NIC y NIC_{pp}) fueron administrados con nicotina (0.4, 0.6 y 0.8 mg/Kg i.p.) durante la fase de inducción y expresión, sin embargo se administró solución salina durante la fase de abstinencia.

3.6. EXPERIMENTO 2: EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE NICOTINA SOBRE PATRONES CONDUCTUALES

Los efectos de la administración de nicotina se evaluaron durante las etapas de inducción y expresión en las diferentes dosis de la droga.

Una vez administrada la droga se observó y registró la presencia o ausencia de los siguientes patrones conductuales:

Incoordinación motora: definida por la inestabilidad o desequilibrio en la marcha. En los casos más severos la administración de la droga provoca la imposibilidad para mantener la cuadripedestación (pararse en cuatro patas).

Broncoespasmos: dados por la contracción bronquial lo que dificulta el paso del aire produciendo sibilancias (sonido silbante) y disnea (dificultad respiratoria).

Tetanización: identificada por la contracción repetida de los músculos de las extremidades anteriores y posteriores provocando un estado de rigidez total.

Convulsiones: caracterizadas por la contracción y extensión de los miembros anteriores y posteriores, seguido de movimientos rítmicos de toda la musculatura esquelética.

Inmovilidad motora: determinada por una disminución del tono muscular y una postura de prono (boca abajo).

Las conductas descritas anteriormente pueden variar dependiendo de la dosis administrada.

3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se representan como promedios \pm error estándar. Estos valores se graficaron con el programa SIGMA PLOT v.12.3. La actividad locomotora se cuantificó como el número total de veces que el sujeto cruza las fotoceldas durante una sesión de 60 minutos. Los datos fueron analizados inicialmente mediante un Análisis de Varianza (ANOVA) de dos vías de medidas repetidas, sesiones como la medida repetida, iniciando en el día uno del tratamiento. En los casos en los que se observó diferencias significativas en la interacción de la sesión con el tratamiento, se utilizó la prueba *post hoc* de Tukey con el fin de detectar las diferencias significativas entre cada uno de los factores en cada fase experimental.

Los promedios de la actividad locomotora inducida por los tratamientos en cada etapa del experimento se analizaron mediante un ANOVA de una vía seguida por una prueba *post hoc* de comparaciones múltiples de Tukey. Las comparaciones en la actividad locomotora entre las diferentes etapas se analizaron mediante un ANOVA de dos vías (Tratamiento X Etapa) seguida de una prueba *post hoc* de Tukey. El nivel de significancia se ajustó a $\alpha = 0.05$. Los análisis estadísticos se realizaron con el Software Statistica versión 10.0 (StatSoft, 1993) y SPSS versión 16.0.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS

En todos los experimentos en los que implica la administración diaria de solución salina, durante las diferentes etapas experimentales, el tratamiento con solución salina no indujo un aumento en la actividad locomotora en el grupo SAL.

Experimento 1: SENSIBILIZACIÓN DOSIS-RESPUESTA.

Nicotina 0.4 mg/Kg.

Durante la fase de inducción, los grupos NIC-0.4 y NICpp-0.4, mostraron un aumento gradual de la actividad locomotora (Fig. 4). El ANOVA de una vía reveló diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 245)} = 344.44$, $p < 0.0001$). Como se muestra en la figura 5-A, la prueba *post hoc* reveló diferencias significativas entre la actividad locomotora promedio mostrada por los grupos NIC-0.4 (Tukey Test $p < 0.0002$) y NICpp-0.4 (Tukey test $p < 0.0002$) con respecto a la actividad motora mostrada por el grupo SAL. Además, el análisis *post hoc* encontró diferencias significativas (Tukey test $p < 0.00002$) en la actividad locomotora promedio mostrada entre los grupos NIC-0.4 y NICpp-0.4.

El ANOVA de dos vías de medidas repetidas encontró diferencias significativas en los factores; grupos ($F_{(2, 26)} = 285$, $p < 0.0001$), tiempo ($F_{(9, 234)} = 27$, $p < 0.0001$) y en la interacción grupos X tiempo ($F_{(18, 234)} = 19$, $p < 0.0001$). La prueba de Tukey reveló diferencias significativas desde el primer día de administración para los grupos NIC-0.4 (Tukey test, $p < 0.0002$) y NICpp-0.4 (Tukey test, $p < 0.002$) con respecto al grupo SAL (Fig. 4). Adicionalmente, la prueba *post hoc*, encontró diferencias significativas en la actividad locomotora mostrada por los grupos NIC-0.4 y NICpp-0.4 a partir de la segunda sesión.

Durante la etapa de abstinencia, los animales de los grupos NIC-0.4 y NICpp-0.4 mostraron una rápida disminución de la actividad locomotora (Fig. 4).

El ANOVA de dos vías de medidas repetidas encontró diferencias significativas en los grupos ($F_{(2, 26)} = 310$, $p < 0.0001$), tiempo ($F_{(9, 234)} = 110.54$, $p < 0.0001$) y en la interacción grupos X tiempo ($F_{(18, 234)} = 85.24$, $p < 0.0001$).

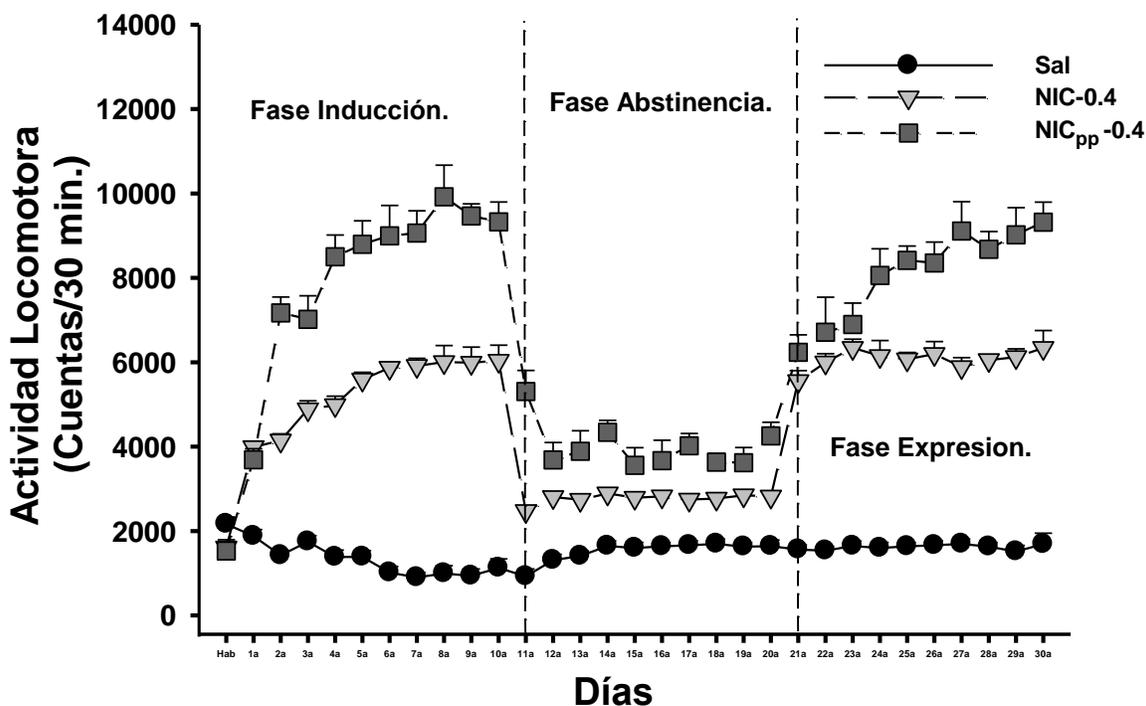


Figura 4. Sensibilización dosis-respuesta. Muestra el efecto de las inyecciones diarias de nicotina (0.4 mg/kg) en los grupos NIC-0.4 y NIC_{pp}-0.4 sobre la actividad locomotora medida en la fase de inducción y expresión de la sensibilización locomotora y la actividad locomotora medida durante la fase de abstinencia en la que no se administra nicotina.

La prueba de Tukey reveló diferencias significativas en la actividad locomotora, a partir del primer día en los grupos NIC-0.4 (Tukey test, $p < 0.0004$) y NIC_{pp}-0.4 (Tukey test, $p < 0.0003$) con respecto al grupo SAL (Fig. 4) y encontró diferencias significativas entre los grupos NIC-0.4 y NIC_{pp}-0.4 a partir de la primera sesión de abstinencia (Tukey test, $p < 0.0002$).

Como se muestra en la figura 5-B, el ANOVA de una vía encontró diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 245)} = 60.10, p < 0.0001$). La prueba de Tukey reveló diferencias significativas entre la actividad locomotora promedio mostrada por los grupos NIC-0.4 (Tukey test, $p < 0.0001$) y NIC_{pp}-0.4 (Tukey test, $p < 0.0003$) con respecto a la actividad mostrada por el grupo control. Además, la

prueba de Tukey encontró diferencias significativas en la actividad locomotora mostrada, entre los grupos NIC-0.4 y NICpp-0.4 (prueba de Tukey $p < 0.0001$).

Como se muestra en la figura 4, en la fase de expresión de la sensibilización locomotora, la administración diaria de nicotina indujo un aumento gradual y significativo en la actividad locomotora mostrada por los grupos NIC-0.4 y NICpp-0.4.

El ANOVA de una vía (figura. 5-C) reveló diferencias significativas entre los grupos experimentales ($F_{(2, 245)} = 462.36$, $p < 0.0001$). La prueba *post hoc* de Tukey reveló diferencias significativas entre la actividad locomotora promedio mostrada por los grupos NIC-0.4 (Tukey test, $p < 0.0002$) y NICpp-0.4 (Tukey test, $p < 0.0002$) con respecto a la actividad locomotora del grupo control. Adicionalmente, la prueba de Tukey reveló diferencias significativas entre la actividad locomotora mostrada por el grupo NIC-0.4 con respecto a la actividad locomotora promedio mostrada por el grupo NICpp-0.4 (prueba de Tukey $p < 0.0001$) (Fig. 5-C).

Además, el ANOVA de dos vías de medidas repetidas encontró diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 26)} = 169$, $p < 0.0001$), tiempo ($F_{(9, 234)} = 10$, $p < 0.0001$) y en la interacción grupos X tiempo ($F_{(18, 234)} = 7$, $p < 0.0001$).

La prueba de Tukey reveló diferencias significativas desde el primer día de administración para ambos grupos experimentales; NIC-0.4 (Tukey test, $p < 0.0002$) y NICpp-0.4 (Tukey test, $p < 0.002$) (Fig. 4), en cambio, interesantemente la prueba *post hoc* encontró diferencias significativas entre los grupos NIC-0.4 y NICpp-0.4 a partir de la cuarta sesión experimental.

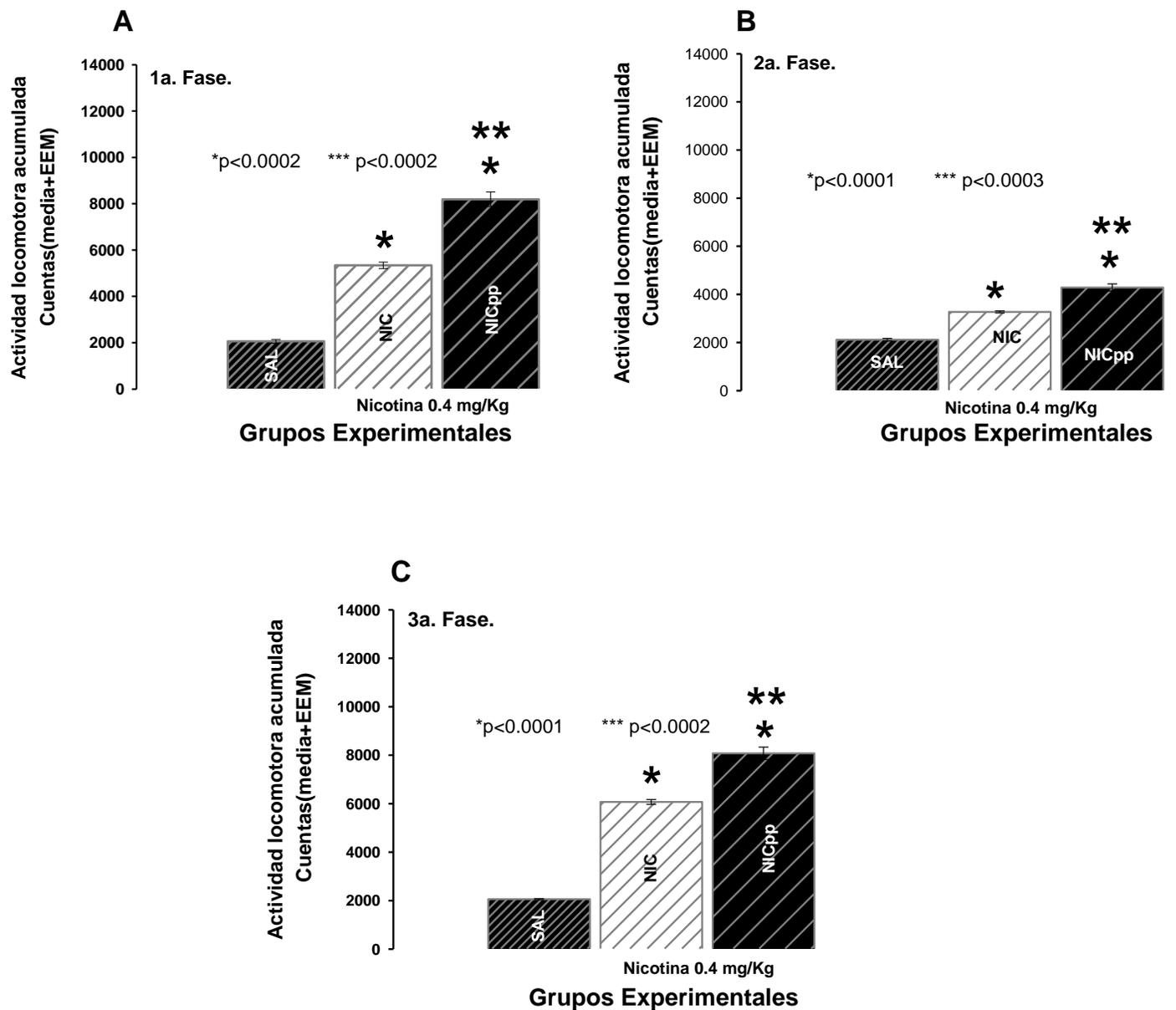


Figura 5. Promedios de actividad locomotora. Muestra la actividad locomotora promedio de los tres grupos (SAL, NIC-0.4 y NIC_{pp}-0.4) durante la fase de Inducción (A), Abstinencia (B) y Expresión (C) de la sensibilización locomotora. El * indica las diferencias significativas entre los grupos NIC y NIC_{pp}, los ** indican las diferencias significativas entre los grupos control y experimental (SAL, NIC-0.4 y NIC_{pp}-0.4).

Nicotina 0.6 mg/kg

Para la dosis de 0.6 mg/kg de nicotina, en la fase de inducción, los grupos NIC-0.6 y NICpp-0.6, mostraron un aumento súbito en la actividad locomotora (Fig. 6). El ANOVA de una vía reveló diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 245)} = 629.49$, $p < 0.0001$). Como se muestra en la figura 7-A, la prueba *post hoc* reveló diferencias significativas entre la actividad locomotora promedio mostrada por los grupos NIC-0.6 (Tukey Test, $p < 0.0002$) y NICpp-0.6 (Tukey test, $p < 0.0002$) con respecto a la actividad motora mostrada por el grupo SAL. Adicionalmente, la prueba de Tukey encontró diferencias significativas (Tukey test, $p < 0.0002$) en la actividad locomotora promedio mostrada entre los grupos NIC-0.6 y NICpp-0.6.

El ANOVA de dos vías de medidas repetidas encontró diferencias significativas en los factores; grupos ($F_{(2, 26)} = 177$, $p < 0.0001$), tiempo ($F_{(9, 234)} = 2$, $p < 0.0001$) y en la interacción grupos X tiempo ($F_{(18, 234)} = 5$, $p < 0.0001$). La prueba de Tukey reveló diferencias significativas a partir de la primera sesión para los grupos NIC-0.6 (Tukey test, $p < 0.0002$) y NICpp-0.6 (Tukey test, $p < 0.002$) con respecto al grupo SAL (Fig. 6). Adicionalmente, la prueba *post hoc*, encontró diferencias significativas entre los grupos NIC-0.6 y NICpp-0.6 a partir de la primera sesión.

Durante la etapa de abstinencia, los animales de los grupos NIC-0.6 y NICpp-0.6 mostraron una rápida disminución de la actividad locomotora (Fig. 6).

El análisis ANOVA de dos vías de medidas repetidas encontró diferencias significativas en los grupos ($F_{(2, 26)} = 310$, $p < 0.0001$), tiempo ($F_{(9, 234)} = 110.54$, $p < 0.0001$) y en la interacción grupos X tiempo ($F_{(18, 234)} = 85.24$, $p < 0.0001$). La prueba de Tukey reveló diferencias significativas en la actividad locomotora, a partir del primer día en los grupos NIC-0.6 (Tukey test, $p < 0.0002$) y NICpp-0.6 (Tukey test, $p < 0.0001$) con respecto al grupo SAL (Fig. 6), pero no encontró diferencias significativas entre los grupos NIC-0.6 y NICpp-0.6 (Tukey test NS, $p = 0.68$).

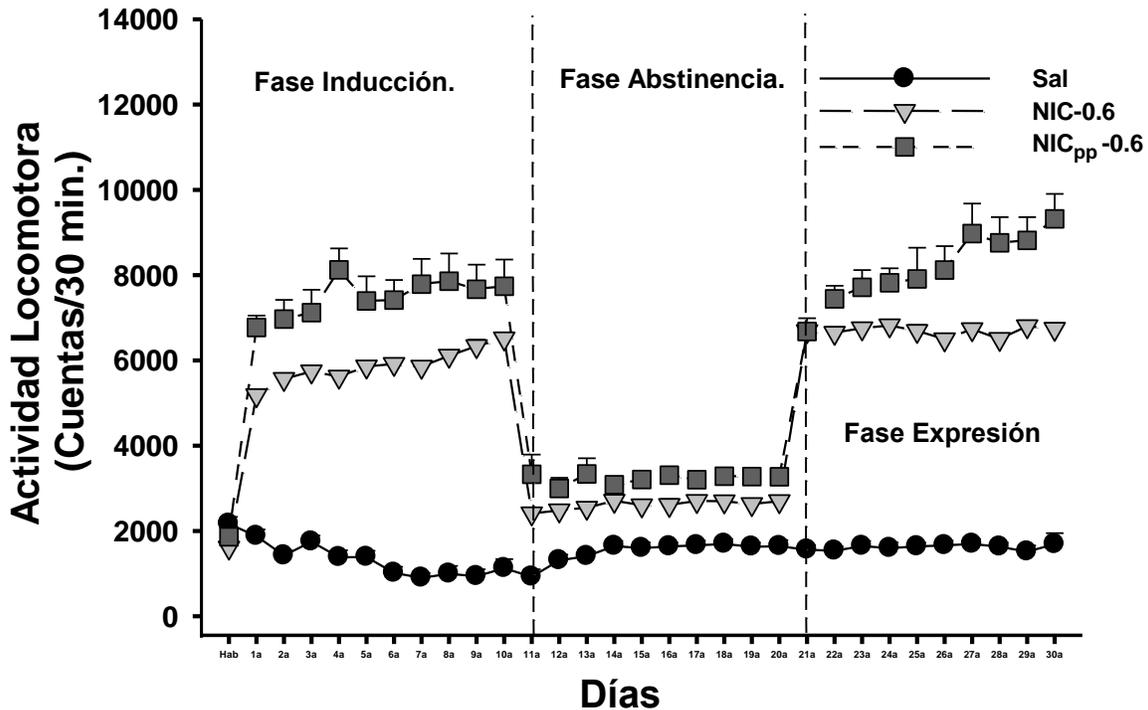


Figura 6. Sensibilización dosis-respuesta. Se muestra el efecto de las inyecciones diarias de nicotina (0.6 mg/kg) en los grupos NIC-0.6 y NIC_{pp}-0.6 sobre la actividad locomotora medida en la fase de inducción y expresión de la sensibilización locomotora y la actividad locomotora medida durante la fase de abstinencia en la que no se administra nicotina.

Como se muestra la figura 7-B, el ANOVA de una vía encontró diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 245)} = 113.33, p < 0.0001$). La prueba de Tukey encontró diferencias significativas entre la actividad locomotora promedio mostrada por los grupos NIC-0.6 (Tukey test, $p < 0.0001$) y NIC_{pp}-0.6 (Tukey test, $p < 0.0002$) con respecto a la actividad mostrada por el grupo control. Además, la prueba de Tukey encontró diferencias significativas en la actividad locomotora mostrada, entre los grupos NIC-0.06 y NIC_{pp}-0.6 (prueba de Tukey, $p < 0.0002$).

Durante la fase de expresión de la sensibilización locomotora, la administración diaria de nicotina indujo un aumento inmediato y significativo en la actividad locomotora mostrada por los grupos NIC-0.6 y NICpp-0.6 (Fig. 6).

El ANOVA de una vía (Fig. 7-C) reveló diferencias significativas entre los grupos experimentales ($F_{(2, 245)} = 668.17$, $p < 0.0001$). La prueba *post hoc* de Tukey reveló diferencias significativas entre la actividad locomotora promedio mostrada por los grupos NIC-0.6 (Tukey test, $p < 0.0002$) y NICpp-0.6 (Tukey test, $p < 0.0002$) con respecto a la actividad locomotora control. Adicionalmente, la prueba de Tukey reveló diferencias significativas entre los grupos NIC-0.6 y NICpp-0.6 (prueba de Tukey, $p < 0.0001$) (Fig. 7-C).

Adicionalmente, el ANOVA de dos vías de medidas repetidas encontró diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 26)} = 237$, $p < 0.0001$), tiempo ($F_{(9, 234)} = 5$, $p < 0.0001$) y en la interacción grupos X tiempo ($F_{(18, 234)} = 4$, $p < 0.0001$). La prueba de Tukey encontró diferencias significativas a partir de la primera sesión experimental para ambos grupos experimentales; NIC-0.6 (Tukey test, $p < 0.0002$) y NICpp-0.6 (Tukey test, $p < 0.002$) (Fig. 6), en cambio, la prueba *post hoc* encontró diferencias significativas entre los grupos NIC-0.6 y NICpp-0.6 a partir de la quinta sesión experimental.

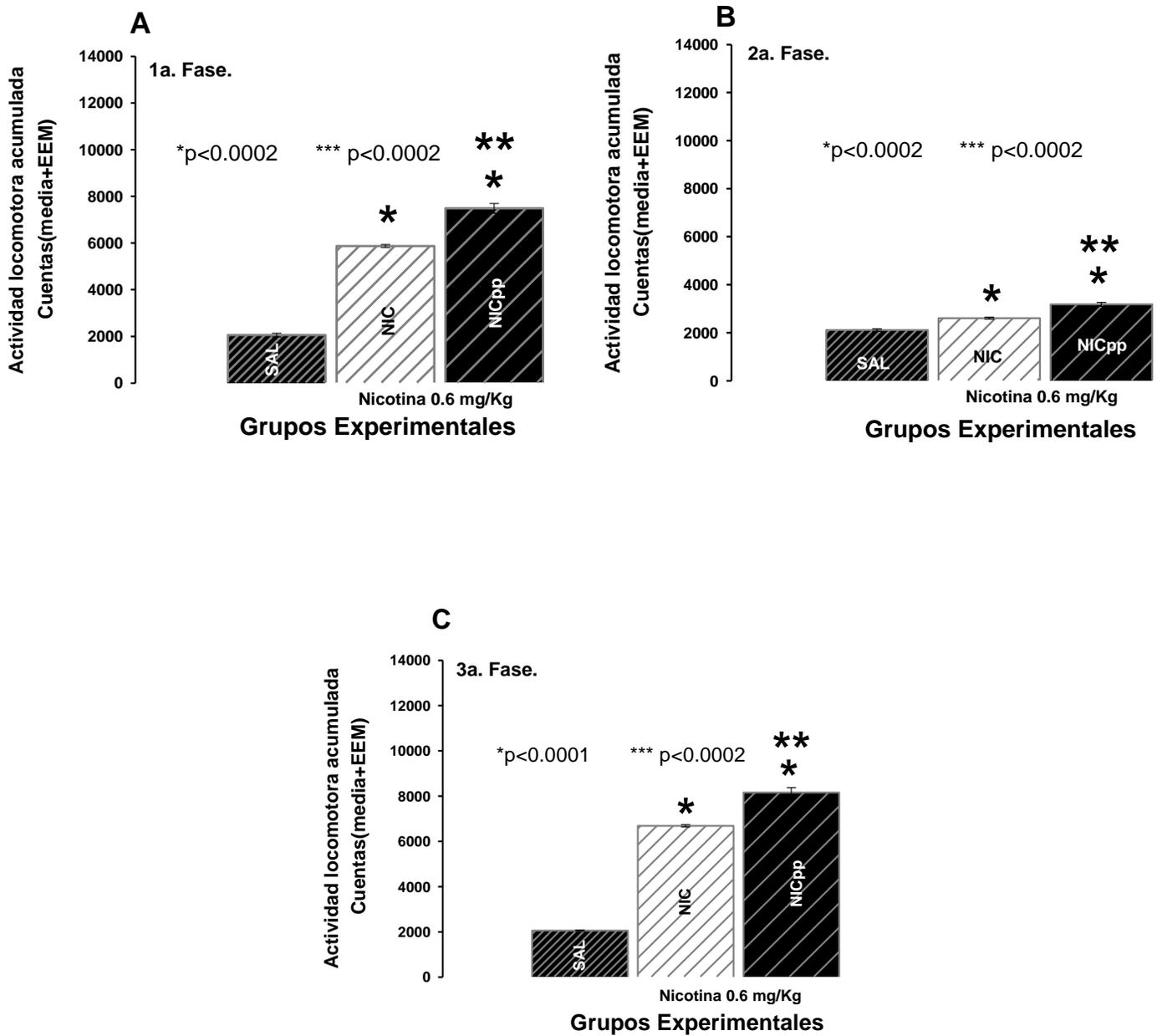


Figura 7. Promedios de actividad locomotora. Muestra la actividad locomotora promedio de los tres grupos (SAL, NIC-0.6 y NIC_{pp}-0.6) durante la fase de Inducción (A), Abstinencia (B) y Expresión (C) de la sensibilización locomotora. El * indica las diferencias significativas entre los grupos NIC y NIC_{pp}, los ** indican las diferencias significativas entre los grupos control y experimental (SAL, NIC-0.6 y NIC_{pp}-0.6).

Nicotina 0.8 mg/Kg.

Durante la fase de inducción, los grupos NIC-0.8 y NICpp-0.8, mostraron un aumento gradual de la actividad locomotora (Fig. 8). El ANOVA de una vía reveló diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 245)} = 127.25$, $p < 0.0001$). Como se muestra en la figura 9-A, la prueba *post hoc* reveló diferencias significativas entre la actividad locomotora promedio mostrada por los grupos NIC-0.8 (Tukey Test, $p < 0.0002$) y NICpp-0.8 (Tukey test, $p < 0.0002$) con respecto a la actividad motora mostrada por el grupo SAL. Además, el análisis *post hoc* encontró diferencias significativas (Tukey test, $p < 0.00002$) en la actividad locomotora promedio mostrada entre los grupos NIC-0.8 y NICpp-0.8.

El ANOVA de dos vías de medidas repetidas encontró diferencias significativas en los factores; grupos ($F_{(2, 26)} = 103$, $p < 0.0001$), tiempo ($F_{(9, 234)} = 5$, $p < 0.0001$) y en la interacción grupos X tiempo ($F_{(18, 234)} = 9$, $p < 0.0001$). La prueba de Tukey reveló diferencias significativas a partir del segundo día de administración para los grupos NIC-0.8 (Tukey test, $p < 0.0002$) y NICpp-0.8 (Tukey test, $p < 0.002$) con respecto al grupo SAL (Fig. 8). Interesantemente, la prueba *post hoc*, encontró diferencias significativas en la actividad locomotora mostrada por los grupos NIC-0.8 y NICpp-0.8 a partir de la séptima sesión experimental.

Durante la etapa de abstinencia, los animales de los grupos NIC-0.8 y NICpp-0.8 mostraron una rápida disminución de la actividad locomotora (Fig. 8).

El análisis ANOVA de dos vías de medidas repetidas encontró diferencias significativas en los grupos ($F_{(2, 26)} = 49$, $p < 0.0001$), tiempo ($F_{(9, 234)} = 1$, $p < 0.0001$) y en la interacción grupos X tiempo ($F_{(18, 234)} = 1$, $p < 0.0001$). La prueba de Tukey no encontró diferencias significativas en la actividad locomotora mostrada por el grupo NIC-0.8 (Tukey test, NS $p = 1$) con respecto al grupo SAL en toda la etapa de abstinencia. Sin embargo, interesantemente, la prueba *post hoc* encontró diferencias significativas, a partir del primer día, en la actividad locomotora, entre los grupos NICpp-0.8 (Tukey test, $p < 0.0002$) y SAL (Fig. 8).

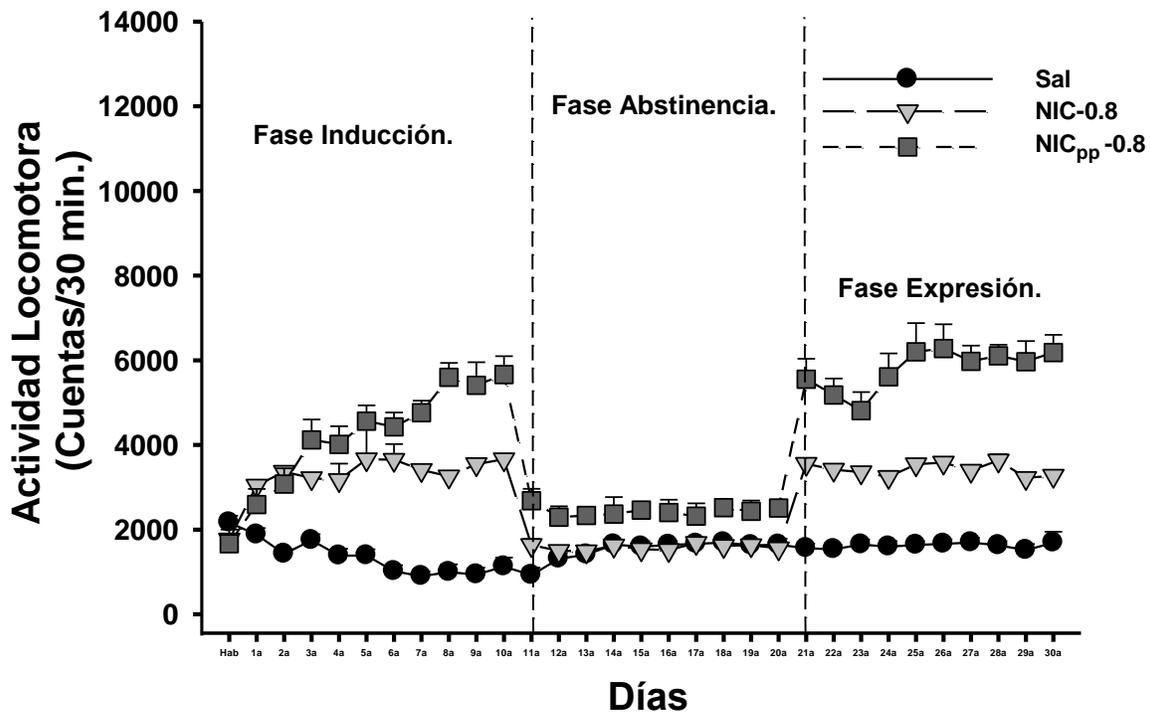


Figura 8. Sensibilización dosis-respuesta. Muestra el efecto de las inyecciones diarias de nicotina (0.8 mg/kg) en los grupos NIC-0.8 y NIC_{pp}-0.8 sobre la actividad locomotora medida en la fase de inducción y expresión de la sensibilización locomotora y la actividad locomotora medida durante la fase de abstinencia en la que no se administra nicotina.

Adicionalmente, la prueba de Tukey encontró diferencias significativas entre los grupos NIC-0.8 y NIC_{pp}-0.8 a partir de la primera sesión de abstinencia (Tukey test, $p < 0.0002$).

Como se muestra en la figura 9-B, el ANOVA de una vía encontró diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 245)} = 78.40, p < 0.0001$). La prueba de Tukey reveló diferencias significativas entre la actividad locomotora promedio

mostrada por los grupos NIC-0.8 (Tukey test, $p < 0.0001$) y NICpp-0.8 (Tukey test, $p < 0.0003$) con respecto a la actividad mostrada por el grupo SAL.

Además, la prueba de Tukey encontró diferencias significativas en la actividad locomotora mostrada, entre los grupos NIC-0.8 y NICpp-0.8 (prueba de Tukey, $p < 0.0001$).

Como se muestra en la figura 8, en la fase de expresión, la administración diaria de nicotina indujo un aumento súbito y significativo en la actividad locomotora mostrada por los grupos NIC-0.8 y NICpp-0.8.

El ANOVA de una vía (Fig. 9-C) reveló diferencias significativas entre los grupos experimentales ($F_{(2, 245)} = 354.19$, $p < 0.0001$). La prueba *post hoc* de Tukey reveló diferencias significativas entre la actividad locomotora promedio mostrada por los grupos NIC-0.8 (Tukey test, $p < 0.0002$) y NICpp-0.8 (Tukey test, $p < 0.0002$) con respecto al grupo control. Adicionalmente, la prueba de Tukey reveló diferencias significativas entre la actividad locomotora mostrada por el grupo NIC-0.8 con respecto a la actividad locomotora promedio mostrada por el grupo NICpp-0.8 (prueba de Tukey, $p < 0.0001$) (Fig. 9-C).

El ANOVA de dos vías de medidas repetidas encontró diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 26)} = 118$, $p < 0.0001$), tiempo ($F_{(9, 234)} = 3$, $p < 0.0001$) y en la interacción grupos X tiempo ($F_{(18, 234)} = 2$, $p < 0.0001$).

La prueba de Tukey reveló diferencias significativas desde el primer día de administración para ambos grupos experimentales; NIC-0.8 (Tukey test, $p < 0.0001$) y NICpp-0.8 (Tukey test, $p < 0.001$) (Fig. 8), Además, la prueba *post hoc* encontró diferencias significativas entre los grupos NIC-0.8 y NICpp-0.8 a partir de la primera sesión experimental.

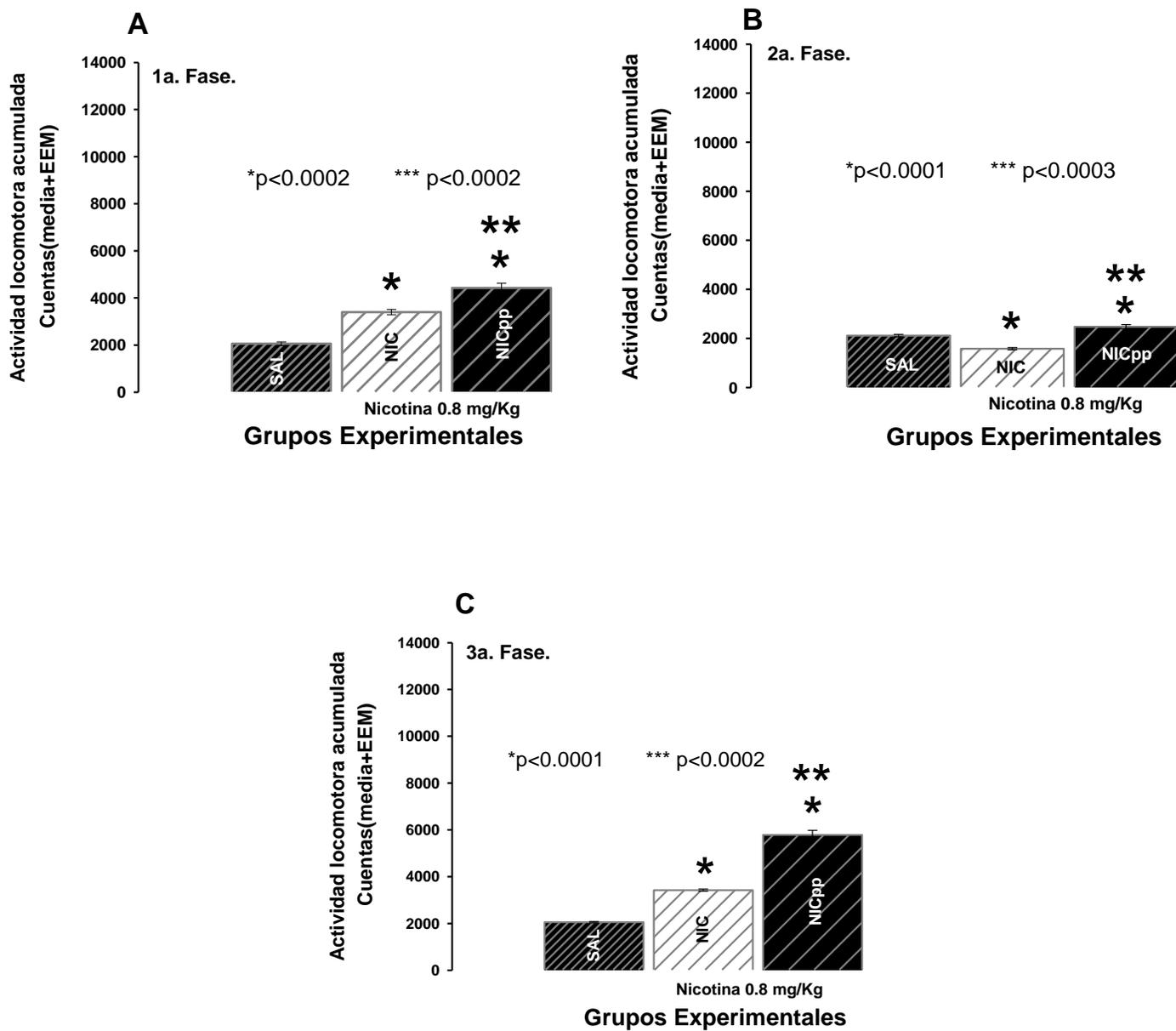


Figura 9. Promedios de actividad locomotora. Muestra la actividad locomotora promedio de los tres grupos (SAL, NIC-0.8 y NIC_{pp}-0.8) durante la fase de Inducción (A), Abstinencia (B) y Expresión (C) de la sensibilización locomotora. El * indica las diferencias significativas entre los grupos NIC y NIC_{pp}, los ** indican las diferencias significativas entre los grupos control y experimental (SAL, NIC-0.8 y NIC_{pp}-0.8).

EXPERIMENTO 2: EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE NICOTINA SOBRE PATRONES CONDUCTUALES

Como se mencionó anteriormente (ver sección de método), cuando se administra la droga, usualmente se observan diferentes patrones conductuales, los cuales son el resultado del efecto de la nicotina sobre receptores nicotínicos localizados en tejido central y periférico. Dentro los patrones conductuales inducidos por la nicotina, se encuentra una incoordinación motora, acompañada de broncoespasmos y aumento en la actividad respiratoria y cardiaca, así como una tetanización muscular seguida de inmovilidad o episodios convulsivos. Es importante mencionar que la frecuencia y duración de cada uno de estos patrones conductuales es dependiente de la dosis de nicotina administrada.

Incoordinación Locomotora.

Cuando se administra una dosis de 0.4 mg/kg de nicotina, el inicio (latencia) del episodio de incoordinación motora es similar entre los grupos NIC-0.4 y NICpp-0.4, tanto en la etapa de inducción y expresión de la sensibilización locomotora. Sin embargo, la duración promedio del evento de incoordinación motora es mayor en los sujetos del grupo NICpp-0.4, en ambas etapas de la sensibilización (Figura 10).

El ANOVA de dos vías encontró diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 22)} = 5.91, p < 0.0008$), etapas ($F_{(2, 44)} = 274.91, p < 0.0001$) y en la interacción grupos X etapa ($F_{(4, 44)} = 6.68, p < 0.0002$). La prueba de Tukey no reveló diferencias significativas en el inicio de los episodios de incoordinación locomotora entre los grupos NIC-0.4 y NICpp-0.4, tanto en la etapa de inducción (prueba de Tukey, NS $p = 0.99$) como en la de expresión (prueba de Tukey, NS $p = 0.99$) de la sensibilización locomotora, pero la prueba *post hoc* encontró diferencias significativas en la duración promedio de los episodios de incoordinación locomotora mostrado por el grupo NIC-0.4 con respecto a la duración mostrada por el grupo NICpp-0.4, tanto en la etapa de inducción (prueba de Tukey, $p < 0.0001$) como en la etapa de expresión (prueba de Tukey, $p < 0.0008$).

Interesantemente, la prueba de Tukey no encontró diferencias significativas en el inicio y duración de la incoordinación motora en el grupo NICpp-0.4, entre la etapa de inducción y de expresión (latencia-prueba de Tukey, NS $p = 1$; duración-prueba de Tukey, NS $p = 0.27$) de la sensibilización.

Cuando se administra nicotina, a una dosis de 0.6 mg/kg, la latencia de los episodios de incoordinación motora son similares entre los dos grupos, NIC-0.6 y NICpp-0.6, en ambas etapas de la sensibilización, sin embargo la duración promedio del evento de incoordinación motora es mucho mayor en los sujetos del grupo NIC-0.6 con respecto a la observada para los sujetos del grupo NICpp-0.6.

El ANOVA de dos vías encontró diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 22)} = 3.49$, $p < 0.004$), etapas ($F_{(2, 44)} = 336.07$, $p < 0.0001$) y en la interacción grupos X etapa ($F_{(4, 44)} = 3.91$, $p < 0.0008$).

La prueba de Tukey no reveló diferencias significativas en la latencia de los episodios de incoordinación locomotora entre los grupos NIC-0.6 y NICpp-0.6, tanto en la etapa de inducción (prueba de Tukey, NS $p = 0.99$) ni en la de expresión (prueba de Tukey, NS $p = 0.93$) de la sensibilización locomotora. Adicionalmente, la prueba *post hoc* encontró diferencias significativas en la duración promedio de los episodios de incoordinación locomotora mostrado por el grupo NIC-0.6 con respecto a la duración mostrada por el grupo NICpp-0.6, tanto en la etapa de inducción (prueba de Tukey, $p < 0.004$) como en la etapa de expresión (prueba de Tukey, $p < 0.0001$). Sin embargo, no encontró diferencias significativas, entre la etapa de inducción y expresión de la sensibilización locomotora en la latencia (prueba de Tukey, NS $p = 0.98$) ni en la duración (prueba de Tukey, NS $p = 0.99$) de la incoordinación motora, mostrada por los sujetos del grupo NICpp-0.6.

Al administrar 0.8 mg/kg de nicotina, el inicio de la incoordinación motora no se ve afectado; en los dos grupos experimentales, NIC-0.8 y NICpp-0.8, el inicio de los episodios de incoordinación motora son similares, sin embargo la duración de los episodios de incoordinación motora es mayor en los sujetos del grupo

NICpp-0.8, tanto en la etapa de inducción como en la etapa de expresión de la sensibilización con respecto a la duración promedio mostrada por el grupo NIC-0.8.

El ANOVA de dos vías encontró diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 22)} = 11.115$, $p < 0.0004$), etapas ($F_{(2, 44)} = 595.67$, $p < 0.0001$) y en la interacción grupos X etapa ($F_{(4, 44)} = 10.27$, $p < 0.0006$). La prueba de Tukey no reveló diferencias significativas en el inicio de los episodios de incoordinación locomotora entre los grupos NIC-0.8 y NICpp-0.8 en la etapa de inducción (prueba de Tukey, NS $p = 1$) ni en la de expresión (prueba de Tukey, NS $p = 1$) de la sensibilización locomotora. Además, la prueba *post hoc* encontró diferencias significativas en la duración promedio de los episodios de incoordinación locomotora mostrado por el grupo NIC-0.8 con respecto a la duración mostrada por el grupo NICpp-0.8 tanto en la etapa de inducción (prueba de Tukey, $p < 0.0006$) como en la etapa de expresión (prueba de Tukey, $p < 0.0001$) de la sensibilización. Interesantemente, la prueba de Tukey no encontró diferencias significativas en el inicio de la incoordinación motora, mostrada por el grupo NICpp-0.8 durante la etapa de inducción con respecto a la mostrada durante la etapa de expresión (prueba de Tukey, NS $p = 1$) de la sensibilización locomotora. Sin embargo, encontró diferencias significativas en la duración de la incoordinación motora, en el grupo NICpp-0.8 entre la etapa de inducción y la etapa de expresión (prueba de Tukey, $p < 0.0001$) de la sensibilización.

Es importante mencionar que para las tres dosis de nicotina utilizadas en este estudio: 0.4, 0.6 y 0.8 mg/Kg, el 100% de los sujetos de los grupos experimentales: NIC-0.4, NIC-0.6, NIC-0.8, NICpp-0.4, NICpp-0.6 y NICpp-0.8, mostraron el desarrollo de episodios de incoordinación motora.

Incoordinación Motora

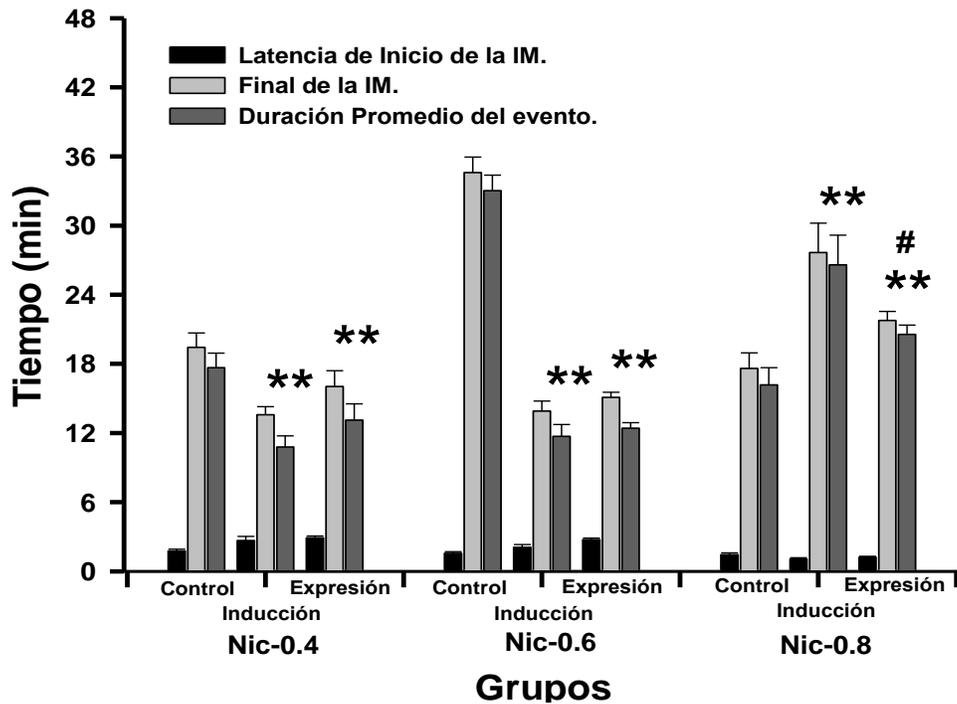


Figura 10. Incoordinación motora. Muestra el efecto de la nicotina en tres dosis diferentes (0.4, 0.6 y 0.8 mg/Kg) sobre el grupo control y los grupos experimentales en la fase de inducción y expresión de la sensibilización locomotora. Los ** indican las diferencias significativas en la duración promedio entre los grupos expuestos y no expuestos prenatalmente a la nicotina en las etapas de inducción y expresión de la sensibilización. El # indica las diferencias significativas en la duración promedio entre la etapa de inducción y expresión en el grupo NIC_{pp}-0.8.

Inmovilidad.

Con respecto a la inmovilidad inducida por la administración de nicotina, las dosis de 0.4 y 0.6 mg/kg de nicotina, no producen episodios de inmovilidad en los sujetos de los grupos NIC-0.4 y NIC-0.6, pero la dosis de 0.8 mg/Kg de nicotina genera la aparición de episodio de inmovilidad. En los sujetos del grupo NIC_{pp}-0.4, se observó que la administración de nicotina a una dosis de 0.4 mg/Kg, indujo la aparición de episodios de inmovilidad de corta duración, tanto en la etapa de inducción, como en la etapa de expresión de la sensibilización. Con las dosis de 0.6 y 0.8 mg/Kg de nicotina, el inicio y duración de los episodios de inmovilidad

tienden a disminuir, esto es evidente en los sujetos del grupo NICpp-0.8 con la dosis de 0.8 mg/Kg los episodios de inmovilidad no se observan (Figura 11).

Al analizar los efectos de la dosis más baja de nicotina (0.4 mg/Kg) con un ANOVA de dos vías no se encontraron diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 22)} = 0.63$, $p = 0.54$), etapas ($F_{(2, 44)} = 1.55$, $p = 0.22$) y en la interacción grupos X etapa ($F_{(4, 44)} = 0.65$, $p = 0.62$). De igual manera, los datos obtenidos tras la administración de la dosis de 0.6 mg/Kg nicotina, se compararon con un ANOVA de dos vías, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 22)} = 0.73$, $p = 0.49$), etapas ($F_{(2, 44)} = 0.61$, $p = 0.54$) y en la interacción grupos X etapa ($F_{(4, 44)} = 0.73$, $p = 0.57$).

Sin embargo, de manera interesante, al analizar los datos obtenidos tras la administración de la dosis de 0.8 mg/Kg de nicotina, con un ANOVA de dos vías, se encontró diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 22)} = 11.75$, $p < 0.0003$), etapas ($F_{(2, 44)} = 4.31$, $p < 0.001$) y en la interacción grupos X etapa ($F_{(4, 44)} = 3.45$, $p < 0.001$). La prueba de Tukey reveló diferencias significativas en el inicio de los episodios de inmovilidad entre los grupos NIC-0.8 y NICpp-0.8, en la etapa de inducción (prueba de Tukey, $p < 0.001$) y en la de expresión (prueba de Tukey, $p < 0.001$) de la sensibilización locomotora. Además, la prueba *post hoc* encontró diferencias significativas en la duración promedio de los episodios de inmovilidad mostrado por el grupo NIC-0.8 con respecto a la duración mostrada por el grupo NICpp-0.8 tanto en la etapa de inducción (prueba de Tukey, $p < 0.001$) como en la etapa de expresión (prueba de Tukey, $p < 0.001$) de la sensibilización. Sin embargo, la prueba de Tukey no encontró diferencias significativas en el inicio y duración de la inmovilidad, mostrada por el grupo NICpp-0.8 durante la etapa de inducción con respecto a la mostrada durante la etapa de expresión (prueba de Tukey, NS $p = 1$) de la sensibilización locomotora.

Con respecto al 100% de los animales, el patrón conductual de inmovilidad no se presenta en ninguno de los sujetos de los grupos NIC-0.4 (0%) y NIC-0.6 (0%) cuando reciben una dosis de nicotina de 0.4 o 0.6 mg/Kg respectivamente. Sin embargo, del 100% de animales del grupo NIC-0.8 en los que se administró

una dosis de nicotina de 0.8 mg/Kg, el 40% de los animales presentó el patrón conductual de inmovilidad. En cuanto a los grupos tratados con nicotina en la etapa pre y postnatal del 100% de los animales que recibieron una dosis de 0.4 mg/Kg de nicotina administrada en la etapa de inducción, únicamente el 20% de los animales mostraron episodios de inmovilidad en esta etapa, observándose que la misma dosis administrada durante la etapa de expresión de la sensibilización únicamente el 10% de los animales mostraron inmovilidad en respuesta a la administración de nicotina. Finalmente, del 100% de los animales que recibieron una dosis de 0.8 mg/Kg de nicotina, administrada durante la etapa de inducción o expresión de la sensibilización locomotora, no mostraron el desarrollo de episodios de inmovilidad.

Inmovilidad

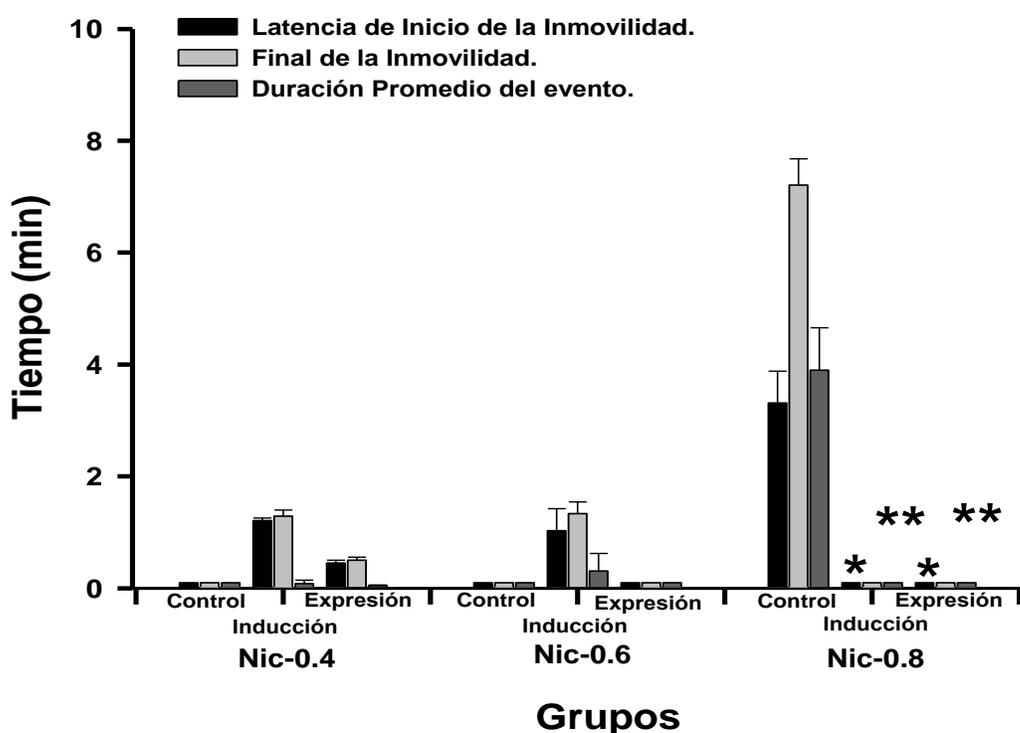


Figura 11. Inmovilidad. Muestra el efecto de la nicotina en tres dosis diferentes (0.4, 0.6 y 0.8 mg/Kg) sobre los grupos control y experimental en la fase de inducción y expresión de la sensibilización locomotora. El * indica las diferencias significativas $p < 0.001$ en el inicio de los episodios de inmovilidad entre los grupos NIC-0.8 y NIC_{pp}-0.8 en la etapa de inducción y expresión de la sensibilización. Los ** indican las diferencias significativas $p < 0.001$ en la duración promedio entre NIC-0.8 y NIC_{pp}-0.8 en la etapa de inducción y expresión de la sensibilización.

Broncoespasmos.

Con respecto a la aparición de broncoespasmos inducidos por la administración de nicotina; dosis de 0.4, 0.6 y 0.8 mg/Kg de nicotina, administrados a los sujetos de los diferentes grupos experimentales, producen un aumento gradual en la latencia y duración de los broncoespasmos (Figura 12).

Cuando se administró una dosis de 0.4 mg/Kg de nicotina, el ANOVA de dos vías no encontró diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 22)} = 2.54$, $p = 0.10$) y en la interacción grupos X etapa ($F_{(4, 44)} = 2.14$, $p = 0.62$), pero encontró diferencias en el factor etapas ($F_{(2, 44)} = 19.64$, $p < 0.001$).

La prueba de Tukey reveló diferencias significativas en el inicio de los episodios de broncoespasmos entre los grupos NIC-0.4 y NICpp-0.4, tanto en la etapa de inducción (prueba de Tukey, $p < 0.003$) como en la de expresión (prueba de Tukey, $p < 0.005$) de la sensibilización locomotora. Además, la prueba *post hoc* encontró diferencias significativas en la duración promedio de los episodios de broncoespasmos mostrado en el grupo NIC-0.4 con respecto a la duración observada en el grupo NICpp-0.4, tanto en la etapa de inducción (prueba de Tukey, $p < 0.001$) como en la etapa de expresión (prueba de Tukey, $p < 0.001$). Adicionalmente, la prueba de Tukey encontró diferencias significativas en el inicio y duración de la broncoespasmos en el grupo NICpp-0.4, entre la etapa de inducción y de expresión (latencia-prueba de Tukey, $p < 0.002$; duración-prueba de Tukey, $p < 0.002$) de la sensibilización.

Los datos obtenidos con la administración de la dosis de 0.6 mg/Kg, fueron analizados con un ANOVA de dos vías, mismo que encontró diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 22)} = 2.95$, $p < 0.007$), etapas ($F_{(2, 44)} = 145.73$, $p < 0.00001$) y en la interacción grupos X etapa ($F_{(4, 44)} = 4.17$, $p < 0.0005$).

La prueba de Tukey no reveló diferencias significativas en la latencia de los episodios de broncoespasmos entre los grupos NIC-0.6 y NICpp-0.6, en la etapa de inducción (prueba de Tukey, NS $p = 0.98$); pero encontró diferencias durante la etapa de expresión (prueba de Tukey, $p < 0.008$) de la sensibilización locomotora.

Adicionalmente, la prueba *post hoc* encontró diferencias significativas en la duración promedio de los episodios de broncoespasmos mostrado por el grupo NIC-0.6 con respecto a la duración mostrada por el grupo NICpp-0.6, en la etapa de inducción (prueba de Tukey, $p < 0.002$); pero no durante la etapa de expresión (prueba de Tukey, NS $p = 0.71$). Además, no encontró diferencias significativas, entre la etapa de inducción y expresión de la sensibilización locomotora en la latencia (prueba de Tukey, NS $p = 0.24$) como en la duración (prueba de Tukey, NS $p = 0.44$) de los broncoespasmos mostrados por los sujetos del grupo NICpp-0.6.

El ANOVA de dos vías encontró diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 22)} = 7.06$, $p < 0.0004$), etapas ($F_{(2, 44)} = 91.62$, $p < 0.00001$) y en la interacción grupos X etapa ($F_{(4, 44)} = 6.80$, $p < 0.00001$), cuando se administra una dosis de 0.8 mg/Kg de nicotina.

La prueba de Tukey no reveló diferencias significativas en el inicio de los episodios de broncoespasmos entre los grupos NIC-0.8 y NICpp-0.8 en la etapa de inducción (prueba de Tukey, NS $p = 0.99$) ni en la de expresión (prueba de Tukey, NS $p = 0.89$) de la sensibilización locomotora. No obstante, la prueba *post hoc* encontró diferencias significativas en la duración promedio de los episodios de broncoespasmos mostrado por el grupo NIC-0.8 con respecto a la duración mostrada por el grupo NICpp-0.8 en la etapa de inducción (prueba de Tukey, $p < 0.001$), pero no durante la etapa de expresión (prueba de Tukey, NS $p = 0.93$) de la sensibilización. Adicionalmente, la prueba de Tukey no encontró diferencias significativas en el inicio de los broncoespasmos (prueba de Tukey, NS $p = 1$), pero si reveló diferencias en la duración de los mismos (prueba de Tukey, $p < 0.003$), mostrada por el grupo NICpp-0.8 durante la etapa de inducción con respecto a la mostrada durante la etapa de expresión de la sensibilización locomotora.

El broncoespasmo es una conducta que se observa comúnmente en respuesta a la administración de nicotina y su frecuencia de aparición es dependiente de la dosis de nicotina utilizada. Para una dosis de 0.4 mg/Kg de

nicotina, el 80% de los animales del grupo NIC-0.4 mostraron episodios de broncoespasmos. En cambio, los sujetos del grupo NICpp-0.4, en la etapa de inducción y expresión de la sensibilización, solo el 30% y el 50% de ellos, respectivamente, mostraron broncoespasmos en respuesta a la administración de nicotina a una dosis de 0.4 mg/Kg. A una dosis de 0.6 y 0.8 mg/Kg de nicotina, el 100% de los animales de los grupos NIC-0.6, NICpp-0.6, NIC-0.8 y NICpp-0.8 mostraron broncoespasmos en respuesta a la administración de nicotina.

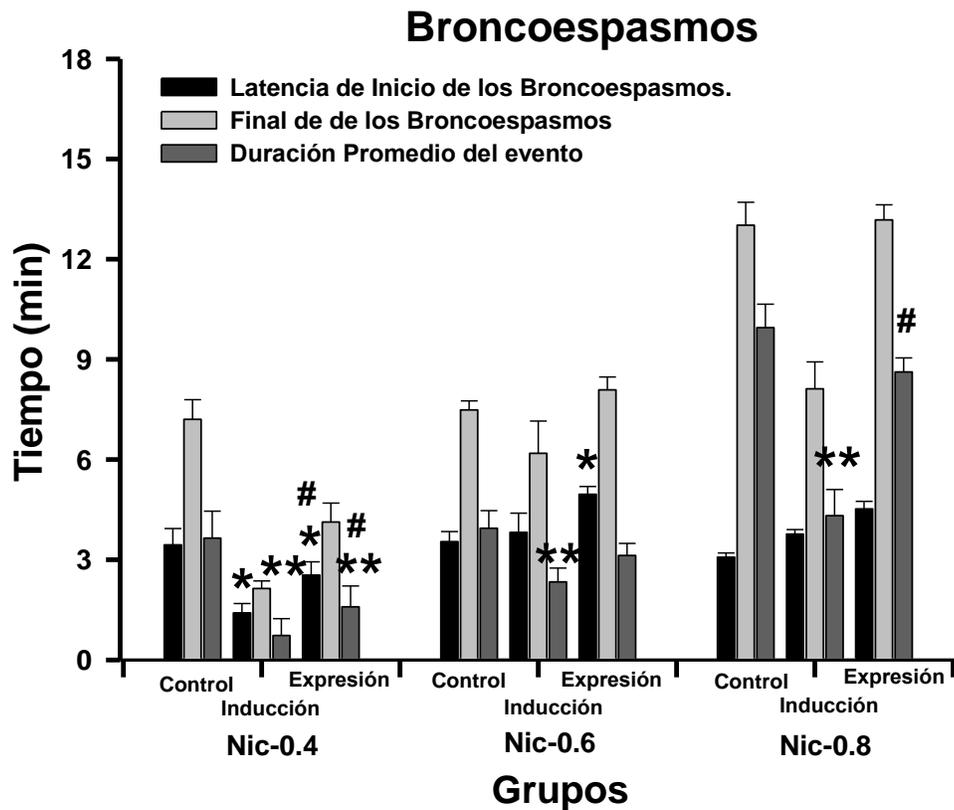


Figura 12. Broncoespasmos. Muestra el efecto de la nicotina en tres dosis diferentes (0.4, 0.6 y 0.8 mg/Kg) sobre los grupos control y experimentales en la fase de inducción y expresión de la sensibilización locomotora. El * indica las diferencias significativas en el inicio de los episodios entre NIC-0.4 y NIC_{pp}-0.4, NIC-0.6 y NIC_{pp}-0.6 en las etapas de inducción y expresión de la sensibilización. Los ** indican las diferencias significativas entre la duración promedio de los grupos expuestos y no expuestos prenatalmente a la nicotina en las tres dosis 0.4, 0.6 y 0.8. El # indica las diferencias en el inicio y duración de los broncoespasmos entre los grupos NIC-0.4 y NIC_{pp}-0.4, así como las diferencias en la duración promedio del grupo NIC_{pp}-0.8 en la etapa de expresión de la sensibilización.

Tetanización Muscular.

Cuando se administró una dosis de 0.4 mg/Kg de nicotina, el inicio de los episodios de tetanización muscular es más rápido en los sujetos del grupo NICpp-0.4 en comparación con el grupo NIC-0.4, en la etapa de inducción y expresión de la sensibilización locomotora. Además, la duración promedio del evento de tetanización muscular es menor en los sujetos del grupo NICpp-0.4, en ambas etapas de la sensibilización (Figura 13).

El ANOVA de dos vías no encontró diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 22)} = 2.31$, $p = 0.12$), pero sí reveló diferencias estadísticamente significativas en los factores etapas ($F_{(2, 44)} = 12.70$, $p < 0.0004$) y en la interacción grupos X etapa ($F_{(4, 44)} = 2.74$, $p < 0.003$). La prueba de Tukey encontró diferencias significativas en el inicio de los episodios de tetanización muscular entre los grupos NIC-0.4 y NICpp-0.4, en la etapa de inducción (prueba de Tukey, $p < 0.001$); pero no encontró diferencias en la etapa de expresión (prueba de Tukey, NS $p = 0.56$) de la sensibilización locomotora. Además, la prueba *post hoc* tampoco encontró diferencias significativas en la duración promedio de los episodios de tetanización muscular mostrado por el grupo NIC-0.4 con respecto a la duración mostrada por el grupo NICpp-0.4, tanto en la etapa de inducción (prueba de Tukey, NS $p = 0.65$) como en la etapa de expresión (prueba de Tukey, NS $p = 0.99$). Adicionalmente, la prueba de Tukey no encontró diferencias significativas en el inicio y duración de la tetanización muscular en el grupo NICpp-0.4, entre la etapa de inducción y de expresión (latencia-prueba de Tukey, NS $p = 0.53$; duración-prueba de Tukey, NS $p = 0.93$) de la sensibilización.

Cuando se administró nicotina, a una dosis de 0.6 mg/Kg, la latencia de los episodios de tetanización muscular fue mayor en el grupo NICpp-0.6, en ambas etapas de la sensibilización con respecto a la latencia mostrada por el grupo NIC-0.6, sin embargo la duración promedio del evento de tetanización muscular resultó mucho mayor en los sujetos del grupo NIC-0.6 con respecto a la observada para los sujetos del grupo NICpp-0.6.

El ANOVA de dos vías no encontró diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 22)} = 0.47$, $p = 0.62$), pero reveló diferencias en los factores etapas ($F_{(2, 44)} = 22.11$, $p < 0.0001$) y en la interacción grupos X etapa ($F_{(4, 44)} = 2.86$, $p < 0.003$).

La prueba de Tukey reveló diferencias significativas en la latencia de los episodios de tetanización muscular entre los grupos NIC-0.6 y NICpp-0.6, en la etapa de inducción (prueba de Tukey, $p < 0.0004$) como en la de expresión (prueba de Tukey, $p < 0.0003$) de la sensibilización locomotora. Adicionalmente, la prueba *post hoc* encontró diferencias significativas en la duración promedio de los episodios de tetanización muscular mostrado por el grupo NIC-0.6 con respecto a la duración mostrada por el grupo NICpp-0.6, tanto en la etapa de inducción (prueba de Tukey, $p < 0.002$) como en la etapa de expresión (prueba de Tukey, $p < 0.0002$). Además, no encontró diferencias significativas, entre la etapa de inducción y expresión de la sensibilización locomotora en la latencia (prueba de Tukey, NS $p = 0.98$); pero encontró diferencias en la duración (prueba de Tukey, $p < 0.0003$) de la tetanización muscular, mostrada por los sujetos del grupo NICpp-0.6.

Al administrar 0.8 mg/Kg de nicotina, el inicio y la duración promedio de la tetanización muscular mostrada por el grupo NICpp-0.8 es similar, tanto en la etapa inducción como en la etapa de expresión de la sensibilización con respecto a la duración promedio mostrada por el grupo NIC-0.8.

El ANOVA de dos vías no encontró diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 22)} = 1.74$, $p = 0.19$), pero reveló diferencias en los factores etapas ($F_{(2, 44)} = 315.08$, $p < 0.0001$) y en la interacción grupos X etapa ($F_{(4, 44)} = 3.92$, $p < 0.008$). La prueba de Tukey no reveló diferencias significativas en el inicio de los episodios de tetanización muscular entre los grupos NIC-0.8 y NICpp-0.8, tanto en la etapa de inducción (prueba de Tukey, NS $p = 1$) como en la de expresión (prueba de Tukey, NS $p = 0.99$) de la sensibilización locomotora. Tampoco encontró diferencias significativas en la duración promedio de los episodios de tetanización muscular mostrado por el grupo NIC-0.8 con respecto a la duración

mostrada por el grupo NICpp-0.8 tanto en la etapa de inducción (prueba de Tukey, NS $p = 0.93$) como en la etapa de expresión (prueba de Tukey, $p = 0.48$) de la sensibilización. Interesantemente, la prueba de Tukey no encontró diferencias significativas en el inicio de la tetanización muscular, mostrada por el grupo NICpp-0.8 durante la etapa de inducción con respecto a la mostrada durante la etapa de expresión (prueba de Tukey, NS $p = 0.95$) de la sensibilización locomotora. Sin embargo, encontró diferencias significativas en la duración de la tetanización muscular, en el grupo NICpp-0.8 entre la etapa de inducción y de expresión (prueba de Tukey, $p < 0.0004$) de la sensibilización.

En el caso de la tetanización muscular; el 100% de los animales de los grupos NIC-0.4, NIC-0.6 y NIC-0.8 mostraron episodios de tetanización muscular. Interesantemente, solo el 10% y 20% de los animales del grupo NICpp-0.4 mostraron tetanización muscular en respuesta a la administración de nicotina a una dosis de 0.4 mg/Kg, en la etapa de inducción y expresión de la sensibilización conductual, respectivamente. Ya para una dosis de nicotina de 0.6 mg/Kg, aumenta el porcentaje de animales que desarrollan episodios de tetanización muscular. En la etapa de inducción, el 70% de los animales muestra tetanización muscular y aumenta, a un 80 % de animales con tetanización muscular durante la etapa de expresión de la sensibilización, a una dosis de nicotina de 0.6 mg/Kg. Ya a una dosis de 0.8 mg/Kg de nicotina, el 100% de animales del grupo NICpp-0.8, muestra episodios de tetanización muscular tras la administración de nicotina.

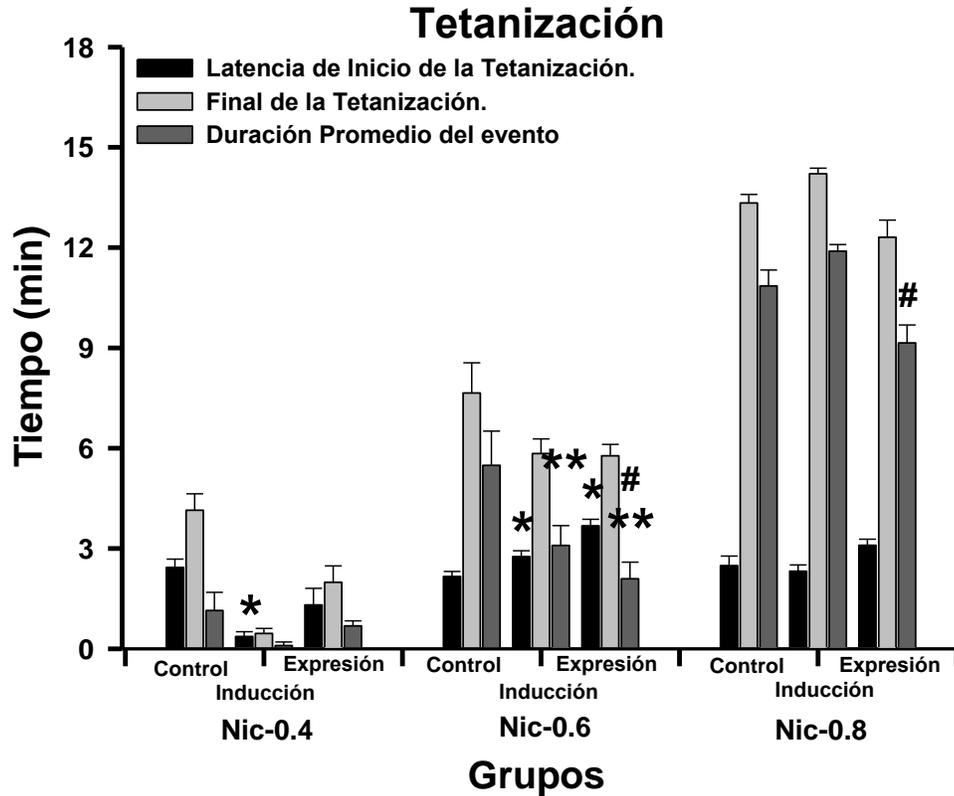


Figura 13. Tetanización muscular. Muestra el efecto de la nicotina en tres dosis diferentes (0.4, 0.6 y 0.8 mg/Kg) sobre los tres grupos en la fase de inducción y expresión de la sensibilización locomotora. El * indica las diferencias en la latencia de inicio de los episodios entre los grupos NIC-0.4 y NIC_{pp}-0.4 en la etapa de inducción, así como las diferencias entre los grupos NIC-0.6 y NIC_{pp}-0.6 en la etapa de inducción y expresión de la sensibilización. El # indica las diferencias en la duración promedio de NIC_{pp}-0.4 en la etapa de inducción con respecto a la expresión, así como las diferencias en la duración promedio entre la etapa de inducción y expresión en el grupo NIC_{pp}-0.8.

Crisis Convulsivas.

Con respecto a la aparición de crisis convulsivas, cuando se administró una dosis de 0.4 mg/Kg de nicotina, el inicio y la duración promedio de las crisis convulsivas es similar en ambos grupos experimentales, NIC-0.4 y NIC_{pp}-0.4, tanto en la etapa de inducción y expresión de la sensibilización locomotora (Figura 14). El ANOVA de dos vías no encontró diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 22)} = 0.57, p = 0.57$), etapas ($F_{(2, 44)} = 1.67, p = 0.19$) ni en la interacción grupos X etapa ($F_{(4, 44)} = 0.57, p = 0.68$).

Cuando se administró nicotina, en la dosis de 0.6 mg/Kg, la latencia y la duración promedio de los episodios de crisis convulsiva es mayor en el grupo NIC-0.6, con respecto a la latencia y duración promedio mostrada por el grupo NICpp-0.6, en ambas etapas de la sensibilización.

El ANOVA de dos vías encontró diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 22)} = 12.35$, $p < 0.0002$), etapas ($F_{(2, 44)} = 16.01$, $p < 0.0006$) y en la interacción grupos X etapa ($F_{(4, 44)} = 8.09$, $p < 0.0005$). La prueba de Tukey reveló diferencias significativas en la latencia de los episodios de crisis convulsiva entre los grupos NIC-0.6 y NICpp-0.6, en la etapa de inducción (prueba de Tukey, $p < 0.0001$) como en la de expresión (prueba de Tukey, $p < 0.0001$) de la sensibilización locomotora. Adicionalmente, la prueba *post hoc* encontró diferencias significativas en la duración promedio de los episodios de crisis convulsiva mostrado por el grupo NIC-0.6 con respecto a la duración mostrada por el grupo NICpp-0.6, tanto en la etapa de inducción (prueba de Tukey, $p < 0.002$) como en la etapa de expresión (prueba de Tukey, $p < 0.0003$). Sin embargo, no encontró diferencias significativas, entre la etapa de inducción y expresión de la sensibilización locomotora en la latencia (prueba de Tukey, NS $p = 0.83$) y en la duración (prueba de Tukey, NS $p = 0.79$) de las crisis convulsivas observadas en los sujetos del grupo NICpp-0.6.

Al administrar 0.8 mg/Kg de nicotina, el inicio de las crisis convulsivas observada en el grupo NICpp-0.8 es similar, tanto en la etapa inducción como en la etapa de expresión de la sensibilización con respecto a la mostrada por el grupo NIC-0.8, pero, la duración promedio de las crisis convulsivas mostradas durante la etapa de inducción y expresión de la sensibilización, por el grupo NICpp-0.8, es menor a la duración promedio generada por los sujetos del grupo NIC-0.8.

El ANOVA de dos vías no encontró diferencias significativas entre los grupos ($F_{(2, 22)} = 0.47$, $p = 0.63$) y en la interacción grupos X etapa ($F_{(4, 44)} = 0.66$, $p = 0.61$), pero encontró diferencias entre las etapas ($F_{(2, 44)} = 65.59$, $p < 0.0001$). La prueba de Tukey no encontró diferencias significativas en el inicio de los episodios de crisis convulsiva entre los grupos NIC-0.8 y NICpp-0.8, en la etapa de inducción (prueba de Tukey, NS $p = 1$) y en la etapa de expresión (prueba de Tukey, NS $p =$

1) de la sensibilización locomotora. Pero encontró diferencias significativas en la duración promedio de los episodios de crisis convulsiva mostrado por el grupo NIC-0.8 con respecto a la duración mostrada por el grupo NICpp-0.8, tanto en la etapa de inducción (prueba de Tukey, $p < 0.004$) como en la etapa de expresión (prueba de Tukey, $p < 0.005$). Sin embargo, no encontró diferencias significativas, entre la etapa de inducción y expresión de la sensibilización locomotora en la latencia (prueba de Tukey, NS $p = 1$) y en la duración (prueba de Tukey, NS $p = 0.99$) de la crisis convulsiva, mostrada por los sujetos del grupo NICpp-0.8.

La frecuencia de aparición de las crisis convulsivas depende de la dosis de nicotina. Con la dosis de 0.4 mg/Kg el 10% de los animales mostró el desarrollo de convulsiones; con la dosis de 0.6 mg/Kg, el porcentaje aumentó hasta 80% y ante la dosis de 0.8 mg/Kg, el 100% de los animales presentó crisis convulsivas. Interesantemente, los sujetos del grupo NICpp-0.4, no presentaron convulsiones con la dosis de 0.4 mg/Kg durante la etapa de inducción y solo el 10% de mostró convulsiones durante la etapa de expresión de la sensibilización locomotora. Más interesante aún, fue que la dosis de 0.6 mg/Kg de nicotina, afectó al 30% de los sujetos durante la etapa de inducción y ningún animal mostrara crisis convulsivas durante la etapa de expresión. Cuando se administró nicotina en la dosis de 0.8 mg/Kg en la etapa de inducción, el 100% de los animales del grupo NICpp-0.8 mostró crisis convulsivas. Y cuando se administró en la etapa de expresión, el 70% presentó convulsiones en respuesta a la administración de nicotina.

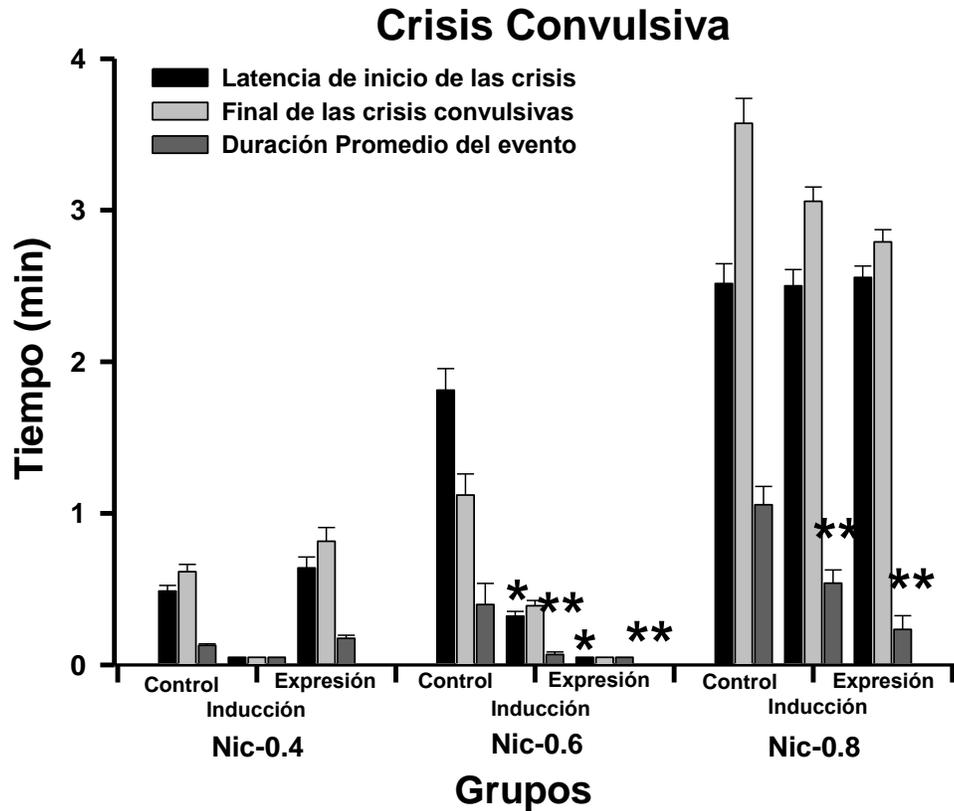


Figura 14. Crisis convulsivas. Muestra el efecto de la nicotina en tres dosis diferentes (0.4, 0.6 y 0.8 mg/Kg) sobre los grupos control y experimentales en la fase de inducción y expresión de la sensibilización locomotora. El * indica las diferencias en la latencia de inicio entre los grupos NIC-0.6 y NIC_{pp}-0.6 en la fase de inducción y expresión. Los ** indican las diferencias en la duración promedio entre los grupos NIC-0.6 y NIC_{pp}-0.6, NIC-0.8 y NIC_{pp}-0.8 en las etapas de inducción y expresión de la sensibilización.

CAPÍTULO 5: DISCUSIÓN

Las consecuencias a largo plazo de la exposición prenatal a la nicotina sobre el sistema nervioso central han sido estudiados a través de modelos animales, en los cuales se ha establecido que la nicotina actúa como un agente teratógeno que compromete el adecuado desarrollo cerebral. Diversos estudios en humanos han documentado efectos adversos inducidos por el consumo de tabaco durante el embarazo. Entre los efectos asociados se encuentran problemas de aprendizaje, TDAH, problemas de conducta y mayor probabilidad de abuso de sustancias durante la adolescencia o edad adulta (Pauly & Slotkin, 2008; Winzer-Serhan, 2008; Dwyer et al., 2009). Los estudios en roedores de igual manera indican que la exposición a la nicotina durante la gestación provoca en las crías una desregulación en el desarrollo neurológico induciendo cambios neuroconductuales duraderos (Abreu-Villaça, et al., 2004; Khanna et al., 2012). Es importante mencionar que entre estos cambios se incluyen efectos sobre el sistema de recompensa que aumenta la susceptibilidad a una posterior conducta adictiva en la edad adulta. Por lo que el presente trabajo tuvo como objetivo caracterizar los efectos de la exposición pre y post natal de nicotina sobre la sensibilización locomotora en ratas. Con el fin de estudiar si la exposición a la nicotina durante la etapa prenatal facilita la sensibilización locomotora ante la re-exposición de la nicotina en etapas posteriores.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran que la exposición prenatal de 0.4mg/Kg de nicotina facilita el proceso de inducción y expresión de la sensibilización locomotora en los tres grupos NIC_{pp} expuestos prenatalmente a la nicotina, en comparación con los grupos no expuestos a la droga.

Como se mencionó anteriormente, los estudios realizados con sensibilización en crías expuestas prenatalmente a la nicotina son escasos y en aquellos en los cuales se ha medido actividad locomotora lo han hecho con dosis altas de nicotina, lo cual resulta aversivo para el animal. Es por ello que en el presente trabajo se emplearon tres dosis relativamente bajas de nicotina (0.4, 0.6 y 0.8 mg/Kg) debido a que permiten obtener respuestas óptimas de sensibilización

sin llegar a ser aversivos para el animal (Ksir et al., 1987; DiFranza & Wellman, 2007).

Los resultados obtenidos en la sensibilización locomotora mostraron que los grupos expuestos y no expuestos prenatalmente a la nicotina presentan un aumento en la actividad locomotora, mostrando un patrón de actividad similar al que se ha reportado en otros estudios de sensibilización realizados con animales *naive* (Domino, 2001; Miller, Wilkins, Bardo, Cooks & Dwoskin, 2001; Steketee & Kalivas, 2011). Sin embargo, la diferencia entre los grupos radica principalmente en el tiempo (número de días) que tarda la droga en establecer un patrón de sensibilización locomotora y en la magnitud de la respuesta. Además, los grupos expuestos prenatalmente a la nicotina, mostraron un aumento significativo en la actividad locomotora desde la primera administración en la etapa de inducción de la sensibilización en las tres dosis administradas en comparación con el aumento de actividad en los animales del grupo control.

De igual manera, se observó que durante la fase de abstinencia, los grupos tratados con nicotina postnatal, expuestos o no expuestos de manera prenatal mostraron una disminución de la actividad locomotora. Sin embargo, de manera interesante, los grupos expuestos prenatalmente a la nicotina mostraron una menor disminución en la actividad. Esta diferencia puede ser debido a que los animales expuestos a la nicotina en etapa prenatal, muestran mayores niveles de actividad espontánea, lo que concuerda con lo reportado en otros estudios (Tizabi, Russell, Nespor, Perry & Grunberg, 2000; Paz et al., 2007; Zhu et al., 2012).

En relación a la fase de expresión de la sensibilización, los grupos NIC y NIC_{pp} en las tres dosis, mostraron un aumento gradual de la actividad locomotora. Lo que se ha reportado que sucede en la sensibilización locomotora medida en animales *naive* (Ksir et al., 1987; Villégier et al., 2003; DiFranza & Wellman, 2007). Sin embargo, al igual que en la fase de inducción, el aumento de la actividad en la fase de expresión fue mayor en los grupos expuestos prenatalmente a la nicotina observada a partir del primer día de administración.

Como se mencionó anteriormente en la fase de inducción de la sensibilización se producen los cambios inmediatos que ocurren como consecuencia de la administración de psicoestimulantes como la nicotina. Estos cambios se ven reflejados en un aumento de la actividad locomotora, en tanto que la expresión de la sensibilización está dada por los cambios a largo plazo, es decir, la consolidación de los cambios provocados durante la primera fase, mismos que se traducen en aumento de la actividad cuando el animal es expuesto nuevamente a la droga (Robinson & Berridge, 2003). De acuerdo con esto, el hecho de que los animales expuestos prenatalmente a la nicotina, hayan tenido mayor actividad locomotora desde la primera dosis en las dos fases (inducción y expresión), sugiere que la exposición durante la gestación a la nicotina provocó cambios en el sistema neurobiológico de recompensa asociado al consumo de drogas (Abreu-Villaça et al., 2004; Vaglenova et al., 2004; Khanna et al., 2012). Por lo tanto, es probable que la diferencia en el aumento de la actividad locomotora se deba al aumento en el número de receptores, específicamente del subtipo $\alpha 4\beta 2$ o a un cambio estructural incrementando su sensibilidad. Estudios han reportado que uno de los efectos inducidos por la exposición prenatal a la nicotina es el aumento en el número de receptores nAChRs, específicamente del subtipo $\alpha 4\beta 2$ (Eriksson et al., 2000; Abreu-Villaça et al., 2004; Huang et al., 2007; Lv et al., 2008), que está implicado en el efecto adictivo de la nicotina y que tras la exposición a la nicotina en etapa prenatal se observa una regulación a la alza que se mantiene hasta la edad adulta (Huang & Winzer-Serhan, 2006).

Además, los datos mostrados en el presente trabajo sugieren que la exposición prenatal a la nicotina, dio lugar a un aumento en la duración de los efectos estimulantes de la droga. Los cuales se explicarían por la mayor liberación de dopamina en el Nacc mediante una mayor capacidad de respuesta en la liberación de glutamato (Giorgetti, Hotsenpiller, Ward, Teppen & Wolf, 2001; Saal, Dong, Bonci & Malenka, 2003; Schilström, Rawal, Mameli-Engvall, Nomikos & Svensson, 2003).

Sin embargo, los resultados obtenidos en el presente trabajo durante la fase de expresión de la sensibilización locomotora, en la cual los efectos de la inyección de nicotina no muestran niveles altos de actividad como se observa en los grupos control puede estar asociada con la disminución de la función glutamatérgica, es decir, que el sostenimiento en la liberación de dopamina disminuye a causa de la regulación a la baja de receptores a glutamato (Wang, Dávila-García, Yarl & Gondré-Lewis, 2011; Parameshwaran, Buabeid, Bhattacharya, Uthayathas, Kariharan, Dhanasekaran & Suppiramaniam, 2013).

Estos datos son importantes debido a que si los efectos observados en ratas tiene efectos similares en humanos, entonces una mayor sensibilidad a la nicotina en etapas posteriores explicaría la conducta de fumar en la adolescencia o adultez, reflejando los cambios surgidos como consecuencia de la exposición prenatal a la nicotina y de la remodelación neuroanatómica de los circuitos cerebrales implicados en la recompensa de la droga (Navarro et al., 1989; Kane, Fu, Matta & Sharp, 2004; Park, Loughlin & Leslie, 2006).

Por otra parte, en este trabajo además se analizaron los efectos aversivos de la nicotina sobre la actividad locomotora. Con el fin de estudiar si los efectos de las diferentes dosis de nicotina eran diferentes en los animales expuestos y no expuestos prenatalmente a la droga, además de observar el efecto dual de la nicotina ya que estudios previos han reportado que además del efecto estimulante de la nicotina, se observa un efecto depresor (disminución de la actividad locomotora) que tiene una duración aproximada de 20 minutos. Sin embargo, esta depresión de la actividad observada durante este tiempo disminuye en el transcurso de las administraciones de nicotina, lo que se ha descrito como tolerancia para el efecto depresor (Clarke & Kumar, 1983).

Como se mencionó anteriormente, los estudios de sensibilización en crías expuestas prenatalmente a la nicotina reportan datos contradictorios debido a la variación en el tiempo en que se mide la actividad, a las dosis utilizadas y a la duración del periodo de registro de actividad. En algunos se reporta aumento de actividad locomotora (Shacka, Fennell & Robinson, 1997; Sobrian et al., 2008) en

tanto que otros muestran que la inyección de nicotina en etapas posteriores no genera aumento en la actividad (LeSage et al., 2006). Las dosis utilizadas en este trabajo, mostraron ser óptimas para los efectos de sensibilización locomotora como se ha descrito anteriormente en otros estudios (Villégier et al., 2003; DiFranza & Wellman, 2007; Sobrian et al., 2008).

En cuanto a los efectos aversivos dados por la administración de nicotina, se observa que están presentes en todos los grupos, expuestos y no expuestos prenatalmente a la nicotina. Estos efectos mostrados en todos los grupos producidos por la administración de nicotina en ambas etapas de la sensibilización locomotora son dependientes de la dosis (Armitage, Hall & Sellers, 1969; Stolerman, Bunker & Jarvik, 1974; Zuo, Lu, Vaupel, Zhang, Chefer, Rea, Moore, Yang. & Stein, 2011). Por lo que los episodios pueden ser distintos en los grupos tanto expuestos como no expuestos a la nicotina. En un inicio, se observan episodios de incoordinación motora seguida por un periodo de inmovilidad vista en todos los grupos expuestos y no expuestos prenatalmente a la nicotina. Posteriormente, este periodo es seguido por la presencia de broncoespasmos, tetanización muscular y convulsiones, observándose un mayor porcentaje de animales que presentan estas crisis con dosis de 0.8 mg/Kg las cuales disminuyen con el transcurso de las administraciones de nicotina (Clarke & Kumar, 1983; Collins, Romm & Wehner, 1988). Esta disminución de los periodos aversivos, dada por la administración de nicotina; concuerdan con lo reportado en otros estudios, los cuales han demostrado que la exposición crónica a la nicotina induce tolerancia a varios de los efectos fisiológicos de la droga (Silvette, Hoff, Larson & Haag, 1962; Wonnacott, 1990; Suemaru, Oishi & Gomita, 1994; Steketee & Kalivas, 2011). Sin embargo, a pesar de que en este trabajo se observa una disminución de los efectos aversivos dados por la administración de nicotina, es importante mencionar que los grupos expuestos prenatalmente a la nicotina muestran menores efectos aversivos en comparación con ratas no expuestas prenatalmente a la nicotina. Además, los efectos aversivos no se presentan en el 100% de los animales y estos van disminuyendo con el transcurso de las administraciones presentándose un porcentaje menor de animales que muestran

efectos aversivos vista en la etapa de expresión de la sensibilización locomotora como se ha descrito en otros estudios (Clarke & Kumar, 1983; Welzl, Bättig & Berz, 1990; Domino, 2001). En este sentido, se ha reportado que el pre-tratamiento con nicotina disminuye los efectos aversivos causados por la administración aguda de nicotina. Se ha observado que animales pre-tratados con nicotina muestran menor tiempo de hipoactividad (efecto depresor) que es seguida por un tiempo mayor de hiperactividad locomotora (Clarke & Kumar, 1983; Domino, 2001; Bruijnzeel, Rodrick, Singh, Derendorf & Bauzo, 2011) potenciando el efecto estimulante de la nicotina que se desarrolla de manera gradual (Bruijnzeel et al., 2011) lo que concuerda con los datos mostrados en este trabajo. Además se observa que dosis como 0.4 y 0.6 mg/Kg de nicotina incrementan el efecto estimulante, en tanto que la dosis más alta (0.8 mg/Kg) provoca efectos depresivos más notorios en la actividad locomotora en grupos expuestos y no expuestos prenatalmente a la nicotina, lo que concuerda con estudios preclínicos (Armitage et al., 1969; Morrison & Stephenson, 1972; Clarke & Kumar, 1983) en los que se muestra que dosis altas disminuyen la activación cortical (efecto depresor) y generan menor actividad locomotora (LeSage et al., 2006; Zuo et al., 2011).

El presente trabajo aporta evidencia sobre los cambios a largo plazo inducidos por la exposición prenatal a la nicotina. Los resultados obtenidos pueden observarse a través de la facilitación de la sensibilización locomotora en la fase de inducción y expresión de la sensibilización en ratas expuestas prenatalmente a la nicotina. Aunado a la disminución de los efectos aversivos dados por la administración posterior de la droga. Este punto es de gran importancia debido a que la intensidad de la respuesta durante el primer contacto con la droga se considera que desempeña un papel importante para la iniciación del consumo de drogas (Niaura, et al., 2001).

Estos hallazgos resultan de gran importancia para la prevención de adicciones en el ser humano, particularmente durante la adolescencia, la etapa del desarrollo más vulnerable para el inicio del consumo no solo de tabaco, sino de

otras sustancias adictivas tales como alcohol, cocaína, entre otras (Trauth, Seidler, Ali & Slotkin, 2001; Bruin, Gerstein & Holloway, 2010). De acuerdo con esto, los resultados obtenidos son importantes ya que dosis de nicotina administradas en animales *naive* inducen efectos aversivos notorios, en tanto que ratas expuestas prenatalmente a la nicotina necesitan dosis más altas para inducir los mismos efectos. Entonces si esto ocurre de manera similar en los humanos, esta podría ser una de las razones por la cual los hijos de madres que fumaron durante el embarazo, son más propensos a fumar en etapas posteriores y a consumir otro tipo de drogas en la adolescencia o edad adulta (Abreu-Villaça et al., 2004; Khanna et al., 2012). Como se reportan en estudios realizados con modelos animales sensibilizados previamente con cocaína, nicotina o anfetamina (Franke et al., 2007; Steketee & Kalivas, 2011) y lo que concuerda con los datos presentados en este trabajo, en el que los efectos aversivos inducidos por el primer contacto con la droga en animales expuestos prenatalmente a la nicotina, se ven disminuidos; contrariamente a lo observado con el efecto gratificante.

Finalmente, los datos aportados en este trabajo pueden enriquecerse por medio del modelo de autoadministración en donde además de ver el efecto que tiene la nicotina ante el primer contacto con la droga en la edad adulta, podría observarse el patrón de consumo. Además, los animales expuestos pre y postnatalmente a la nicotina podrían ser valiosos para plantearse alguna forma de tratamiento ya que como se mencionó en este trabajo, los animales expuestos prenatalmente a una dosis relativamente baja de nicotina (0.4mg/kg) durante la etapa pre y postnatal muestran efectos distintos ante la exposición de la droga en la edad adulta en comparación con animales que no recibieron este tratamiento.

Este trabajo es relevante para la prevención de adicciones en el humano, ya que permite observar que la exposición prenatal a la nicotina induce efectos a largo plazo en los hijos expuestos prenatalmente a la nicotina. Sería importante informar sobre los efectos que tiene el uso de terapias de reemplazo como parches, chicles o inhaladores de nicotina ya que si bien proporcionan una cantidad menor de nicotina, los efectos de su consumo son similares a consumir

tabaco, ya que la nicotina atraviesa igualmente la barrera placentaria y proporciona una dosis equivalente a fumar 10 cigarrillos por día (Pauly & Slotkin, 2008; Bruin, Gerstein & Holloway, 2010) es por ello que resulta de gran importancia desarrollar programas de información sobre los efectos adictivos de la nicotina ya que es un factor importante para el cese o disminución de consumo de tabaco durante el embarazo.

CONCLUSIÓN

Con base en los resultados observados en el presente trabajo, podemos concluir los siguientes hechos:

1. El tratamiento con nicotina en etapa prenatal y postnatal produce diferencias en la sensibilización locomotora de los sujetos.
2. El aumento en la actividad inducido por la nicotina en las dos etapas de la sensibilización locomotora (inducción y expresión), fueron mayores en crías expuestas pre y postnatalmente a la nicotina en comparación con los controles.
3. Los efectos en los patrones conductuales (incoordinación motora, broncoespasmos, tetanización, convulsiones e inmovilidad motora) dados por la administración de nicotina, fueron distintos en los tres grupos tratados con dosis de (0.4, 0.6 y 0.8 mg/Kg), además de que no se presentaron los efectos periféricos en el 100% de los sujetos tratados con nicotina en la etapa pre y postnatal.

REFERENCIAS

- Abreu-Villaça, Y., Seidler, F.J., Tate, C.A., Cousins, M.M. & Slotkin, T.A. (2004). Prenatal nicotine exposure alters the response to nicotine administration in adolescence: effects on cholinergic systems during exposure and withdrawal. *Neuropsychopharmacology*, 29(5), 879-890.
- Ajarem, J.S. & Ahmad, M. (1998). Prenatal nicotine exposure modifies behavior of mice through early development. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 59(2), 313-318.
- Armitage, A.K., Hall, G.H. & Sellers, C.M. (1969). Effects of nicotine on electrocortical activity and acetylcholine release from the cat cerebral cortex. *British Journal of Pharmacology*, 35(1), 152-160.
- Bailey, D.B. (2002). Are critical periods critical for early childhood education?: The role of timing in early childhood pedagogy. *Early Childhood Research Quarterly*, 17(3), 281-294. doi: 10.1016/S0885-2006(02)00165-5
- Baler, R. & Volkow, N. (2006). Drug addiction: the neurobiology of disrupter self-control. *Trends in Molecular Medicine*, 12(12), 559-566.
- Barker, D.J., Lampl, M., Roseboom, T. & Winder, N. (2012). Resource allocation in utero and health in later life. *Placenta*, 33, 30-34. doi:10.1016/j.placenta.2012.06.009
- Bassuk, A. G. & Kibar, Z. (2009). Genetic basis of neural tube defects. *Seminars in pediatric neurobiology*. 16(3), 101-110. doi: 10.1016/j.spen.2009.06.001
- Bear, M., Connors, B.W. & Paradiso, M. (2007). *Neurociencia. La exploración del cerebro*. Baltimore: Lippincott. pp: 691-710.

- Benowitz, N.L. (1986). Clinical pharmacology of nicotine. *Annual Review of Medicine*, 37, 21-32.
- Benowitz, N.L. (2008). Neurobiology of Nicotine Addiction: Implications for Smoking Cessation Treatment. *American Journal of Medicine*, 121(4-1), S3-S10. doi:10.1016/j.amjmed.2008.01.015
- Benowitz, N.L., Hukkanen, J. & Jacob, P III. (2009). Nicotine chemistry, metabolism, kinetics and biomarkers. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 192, 29–60. doi: 10.1007/978-3-540-69248-5_2
- Berrendero, F., Robledo, P., Trigo, J.M., Martín-García, E. & Maldonado, R. (2010). Neurobiological mechanisms involved in nicotine dependence and reward: participation of the endogenous opioid system. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 35(2), 220-231. doi: 10.1016/j.neubiorev.2010.02.006
- Bron, T.I, Bijlenga, D., Kasander, M.V., Spuijbroek, A.T., Beekman, A.T. & Kooij, J.J. (2013). Long-term relationship between methylphenidate and tobacco consumption and nicotine craving in adults with ADHD in a prospective cohort study. *European Neuropsychopharmacology*, 23(6), 542-554. doi:10.1016/j.euroneuro.2012.06.004
- Bruijnzeel, A.W., Rodrick, G., Singh, R.P., Derendorf, H. & Bauzo, R.M. (2011). Repeated pre-exposure to tobacco smoke potentiates subsequent locomotor responses to nicotine and tobacco smoke but not amphetamine in adult rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 100(1), 109-118. doi: 10.1016/j.pbb.2011.08.005
- Bruin, J.E., Gerstein, H.C. & Holloway, A.C. (2010). Long-Term consequences of fetal and neonatal nicotine exposure: a critical review. *Toxicological Sciences*, 116(2), 364-374. doi: 10.1093/toxsci/kfq103
- Caine, S. B. & Koob, G.F. (1994). Effects of mesolimbic dopamine depletion on responding maintained by cocaine and food. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 61(2), 213-221. doi:10.1901/jeab.1994.61-213

- Carlson, N. R. (2007). Estructura del sistema nervioso. En Martín-Romo, M. (Ed). *Fisiología de la Conducta*. Madrid: Pearson Educacion. pp: 71-106
- Cintra, L. & Galván, A. (1991). Influencia de los nutrientes en el desarrollo del sistema nervioso. En Salas, M. *Aspectos comparativos y mecanismos de regulación de la ontogenia neuronal*. México: Sociedad mexicana de ciencias fisiológicas. pp: 147-164.
- Clancy, B., Darlington, R.B. & Finlay, B. L. (2001). Translating developmental time across mammalian species. *Neuroscience*, *105*(1), 7-17. doi:10.1016/S0306-4522 (01) 00171-3
- Clancy, B., Finlay, B.L., Darlington, R.B. & Anand, K.J. (2007). Extrapolating brain development from experimental species to humans. *Neurotoxicology*, *28*(5), 931-937. doi:10.101/j.neuro.2007.01.014
- Clarke, P.B. & Kumar, R. (1983). Characterization of the locomotor stimulant action of nicotine in tolerant rats. *British Journal of Pharmacology*, *80*(3), 587-594.
- Cohen, A. & George, O. (2013). Animal models of nicotine exposure: relevance to second-hand smoking, electronic cigarette use, and compulsive smoking. *Frontiers in Psychiatry*. *4*(41), 1-21. doi:10.3389/fpsy.2013.00041
- Collins, A.C., Romm, E. & Wehner, J.M. (1988). Nicotine tolerance: an analysis of the time course of its development and loss in the rat. *Psychopharmacology (Berl)*, *96*(1), 7-14.
- Colombo, S.F., Mazzo, F., Pistillo, F & Gotti, C. (2013). Biogenesis, trafficking and up-regulation of nicotinic ACh receptors. *Biochemical Pharmacology*, *86*(8), 1063-1073. doi: 10.1016/j.bcp.2013.06.023
- Cornelius, M.D. & Day, N.L. (2009). Developmental consequences of prenatal tobacco exposure. *Current Opinion in Neurology*, *22*(2), 121-125. doi: 10.1097/WCO.0b013e328326f6dc

- Corrigall, W.A., Coen, K.M., Zhang, J. & Adamson, K.L. (2001). GABA mechanisms in the pedunculopontine tegmental nucleus influence particular aspects of nicotine self-administration selectively in the rat. *Psychopharmacology*, 158(2), 190-197. doi:10.1007/s002130100869
- Covey, L.S., Glassman, A.H. & Stetner, F. (1997). Major depression following smoking cessation. *American Journal of Psychiatry*, 154(2), 263-265.
- Dani, J.A. & De Biasi, M. (2001). Cellular mechanisms of nicotine addiction. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 70 (4), 439-446.
- Detar, D. T. (2011). Understanding the Disease of Addiction. *Primary care: Clinics in Office Practice*, 38(1), 1-7. doi: 10.1016/j.pop.2010.11.001
- DiFranza, J. & Wellman, R. (2007). Sensitization to nicotine: How the animal literature might inform future human research. *Nicotine & Tobacco Research*, 9 (1), 9–20.
- Domino, E.F. (2001). Nicotine induced behavioral locomotor sensitization. *Progress in Neuropsychopharmacol Biological Psychiatry*, 25(1), 59-71.
- Douglas, A.J. (2011). Mother-offspring dialogue in early pregnancy: Impact of adverse environment on pregnancy maintenance and neurobiology. *Progress in Neuro - Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 35 (5), 1167-1177. doi:10.1016/j.pnpbp.2010.07.024
- du Plessis A.J. (2009). Cerebral blood flow and metabolism in the developing fetus. *Clinics in Perinatology*, 36(3), 531-548. doi:10.1016/j.clp.2009.07.002
- Dwyer, J.B., McQuown, S.C. & Leslie, F.M. (2009). The dynamic effects of nicotine on the developing brain. *Pharmacology & Therapeutics*.122(2), 125-139.

- El-Sokkary, G.H., Cuzzocrea, S. & Reiter, R.J. (2007). Effect of chronic nicotine administration on the rat lung and liver: Beneficial role of melatonin. *Toxicology*, 239(1), 60-67.
- Eriksson, P., Ankarberg, E. & Fredriksson, A. (2000). Exposure to nicotine during a defined period in neonatal life induces permanent changes in brain nicotinic receptors and in behaviour of adult mice. *Brain Research*, 853(1), 41-48.
- Ernst, M., Moolchan, E.T. & Robinson ML. (2001). Behavioral and neural consequences of prenatal exposure to nicotine. *Journal of the American Academy Child and Adolescent Psychiatry*, 40(6), 630-641.
- Esch, T. & Stefano, G.B. (2004). The neurobiology of pleasure, reward processes, addiction and their health implications. *Neuroendocrinology Letters*, 4 (25), 235-251.
- Escobar, C. & Salas, M. (1991). Influencia de la estimulación sensorial sobre el desarrollo del sistema nervioso. En Salas, M. *Aspectos comparativos y mecanismos de regulación de la ontogenia neuronal*. México: Sociedad mexicana de ciencias fisiológicas. pp: 233-247.
- Franke, R.M., Belluzzi, J.D. & Leslie, F.M. (2007). Gestational exposure to nicotine and monoamine oxidase inhibitors influences cocaine-induced locomotion in adolescent rats. *Psychopharmacology*, 195(1), 117-124.
- Fried, P.A., Watkinson, B. & Gray, R. (2003). Differential effects on cognitive functioning in 13- to 16-year-olds prenatally exposed to cigarettes and marihuana. *Neurotoxicology and Teratology*, 25(4), 427-436. doi:10.1016/S0892-0362 (03) 00029-1
- Fucile, S. (2004). Ca²⁺ permeability of nicotinic acetylcholine receptors. *Cell Calcium*, 35(1), 1-8.
- Fung, Y.K. & Lau, Y.S. (1992). Chronic effects of nicotine on mesolimbic dopaminergic system in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 41(1), 57-63.

- Garner, C.C., Zhai, R.G., Gundelfinger, E.D. & Ziv, N.E. (2002). Molecular mechanisms of CNS synaptogenesis. *Trends in Neurosciences*, 25(5), 243-251.
- Giorgetti, M., Hotsenpiller, G., Ward, P., Teppen, T. & Wolf, M.E. (2001). Amphetamine-induced plasticity of AMPA receptors in the ventral tegmental area: effects on extracellular levels of dopamine and glutamate in freely moving rats. *Journal of the Neuroscience*, 21(16), 6362-6369.
- Glassman, A.H., Covey, L.S., Stetner, F. & Rivelli, S. (2001). Smoking cessation and the course of major depression: a follow-up study. *Lancet*, 357(9272), 1929-1932.
- Guo, J. & Anton, E.S. (2014). Decision making during interneuron in the developing cerebral cortex. *Trends in cell Biology*, 24(6), 342-351. doi:10.1016/j.tcb.2013.12.001
- Hahn, T., Barth, S., Graf, R., Engelmann, M., Beslagic, D., Reul, JM., Holsboer, F., Dohr, G. & Desoye, G.
- Gotti, C., Moretti, M., Gaimarri, A., Zanardi, A., Clementi, F. & Zoli, M. (2007). Heterogeneity and complexity of native brain nicotinic receptors. *Biochemical Pharmacology*, 74(8), 1102-1111. doi:10.1016/j.bcp.2007.05.023
- Govind, A.P., Vezina, P. & Green, W.N. (2009). Nicotine-induced upregulation of nicotinic receptors: underlying mechanisms and relevance to nicotine addiction. *Biochemical Pharmacology*, 78, 756–765. doi:10.1016/j.bcp.2009.06.011
- Grief, S.N. (2011). Nicotine dependence: health consequences, smoking cessation therapies, and pharmacotherapy. *Primary Care*, 38(1), 23-39. doi: 10.1016/j.pop.2010.11.003
- Hahn, T., Barth, S., Graf, R., Engelmann, M., Beslagic, D., Reul, JM., Holsboer, F., Dohr, G. & Desoye, G. (1999). Placental glucose transporter expression is regulated by glucocorticoids. *The journal of clinical endocrinology and metabolism*, 84(4), 1445-1452.

- Hammond, S.K. (2009). Global patterns of nicotine and tobacco consumption. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 192, 3-28. doi: 10.1007/978-3-540-69248-5_1
- Hibb, R. & Zambon, A. (2012). Fármacos que actúan en la unión neuromuscular y en los ganglios autónomos. En Goodman, L.S. & Gilman, A. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. McGraw-Hill. 12^a Ed. pp: 255-276.
- Heath, C.J. & Picciotto, M.R. (2009). Nicotine-induced plasticity during development: modulation of the cholinergic system and long-term consequences for circuits involved in attention and sensory processing. *Neuropharmacology*, 56(1), 254-262. doi:10.1016/j.neuropharm.2008.07.020
- Hendricks, P.S., Ditte, J.W., Drobos, D.J & Brando, T.H. (2006). The early time course of smoking withdrawal effects. *Psychopharmacology*, 187(3), 385-396. doi: 10.1007/s00213-006-0429-9
- Huang, L.Z. & Winzer-Serhan, U.H. (2006). Chronic neonatal nicotine upregulates heteromeric nicotinic acetylcholine receptor binding without change in subunit mRNA expression. *Brain Research*, 1113(1), 94-109. doi: 10.1016/j.brainres.2006.06.084
- Huang, L.Z., Abbott, L.C. & Winzer-Serhan, U.H. (2007). Effects of chronic neonatal nicotine exposure on nicotinic acetylcholine receptor binding, cell death and morphology in hippocampus and cerebellum. *Neuroscience*, 146(4), 1854-1868. doi:10.1016/j.neuroscience.2007.03.008
- Hurley, L., Taylor, R. & Yousef, T. (2012). Positive and Negative Effects of Alcohol and Nicotine and Their Interactions: A Mechanistic. *Neurotoxicity Research*, 21(1), 57-69. doi: 10.1007/s12640-011-9275-6
- Hurst, R., Rollema, H. & Bertrand, D. (2013). Nicotinic acetylcholine receptors: from basic science to therapeutics. *Pharmacology & Therapeutics*, 137(1), 22-54. doi: 10.1016/j.pharmthera.2012.08.012

- Hussein, J., Farkas, S., MacKinnon, Y., Ariano, R.E., Sitar, D.S. & Hasan, S.U. (2007). Nicotine dose-concentration relationship and pregnancy outcomes in rat: biologic plausibility and implications for future research. *Toxicology and Applied Pharmacology*, *218(1)*, 1-10. doi:10.1016/j.taap.2006.10.019
- Improgo, M.R., Scofield, M.D., Tapper, A.R. & Gardner, P.D. (2010). From smoking to lung cancer: the CHRNA5/A3/B4 connection. *Oncogene*, *29(35)*, 4874-84. doi: 10.1038/onc.2010.256
- Jernigan, T.L., Baaré, W.F., Stiles, J. & Madsen, K.S. (2011). Postnatal brain development: structural imaging of dynamic neurodevelopmental processes. *Progress in Brain Research*, *189*, 77-92. doi: 10.1016/B978-0-444-53884-0.00019-1
- Kalman, D., Morissette, S.B. & George, T.P. (2005). Co-morbidity of smoking in patients with psychiatric and substance use disorders. *The American Journal on Addictions*, *14(2)*, 106-123. doi:10.1080/10550490590924728
- Kane, V.B., Fu, Y., Matta, S.G. & Sharp, B.M. (2004). Gestational nicotine exposure attenuates nicotine-stimulated dopamine release in the nucleus accumbens shell of adolescent Lewis rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *308(2)*, 521-8. doi: 10.1124/jpet.103.059899
- Khanna, S.P., Sharma, S. & Nehru, B. (2012). Consequences of nicotine exposure during different phases of rat brain development. *Brain Development*, *34(7)*, 591-600. doi:10.1016/j.braindev.2011.10.002
- Koob, G.F. (1992). Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways. *Trends in Pharmacological Sciences*, *13(5)*, 177-184.
- Koob, G.F. (2006). The neurobiology of addiction: a neuroadaptational view relevant for diagnosis. *Addiction*, *101(1)*, 23-30.

- Koob, G.F. & Bloom, F.E. (1988). Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. *Science*, 242, 715–723.
- Koob, G.F. & Le Moal, M. (2001). Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropsychopharmacology*, 24(2), 97-129. doi:10.1016/S0893-133x(00)00195-0
- Koob, G.F. & Volkow, N.D. (2010). Neurocircuitry of Addiction. *Neuropsychopharmacology*, 35, 217–238. doi:10.1038/npp.2009.110
- 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.
- Lança, A.J., Adamson, K.L., Coen, K.M., Chow, B.L. & Corrigall, W.A. (2000). The pedunculopontine tegmental nucleus and the role of cholinergic neurons in nicotine self-administration in the rat: a correlative neuroanatomical and behavioral study. *Neuroscience*, 96(4), 735-742. doi:10.1016/S0306-4522(99)00607-7
- Lasser, K., Boyd, J.W., Woolhandler, S., Himmelstein, D.U., McCormick, D. & Bor, D.H. (2000). Smoking and mental illness: A population- based prevalence study. *The Journal of the American Medical Association*, 284(20), 22-29.
- Laviolette, S.R. & Van der Kooy, D. (2004). The neurobiology of nicotine addiction: bridging the gap from molecules to behaviour. *Nature Reviews. Neuroscience*, 5(1), 55–65.
- Le, H. (2003). Role of nicotine pharmacokinetics in nicotine addiction and nicotine replacement therapy: a review. *International Journal of Tuberculosis and Lung Diseases*, 7(9), 811–819.
- LeSage, M., Gustaf, E., Dufek, M. & Pentel, P. (2006). Effects of maternal intravenous nicotine administration on locomotor behavior in pre-weanling rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 85, 575–583.

- Levin, E.D. & Slotkin, T.A. (1998). *Developmental neurotoxicity of nicotine in: Handbook of developmental neurotoxicology*. San Diego: Academic Press. pp: 587-615.
- Levin, E.D., McClernon, F.J. & Rezvani, A.H. (2006). Nicotinic effects on cognitive function: behavioral characterization, pharmacological specification, and anatomic localization. *Psychopharmacology*, 184(3-4), 523-539.
- Lloyd, G.K. & Williams, M. (2000). Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors as Novel Drug Targets. *Perspectives in Pharmacology*, 292(2), 461-467.
- Lodge, D.J. & Grace, A.A. (2006). The laterodorsal tegmentum is essential for burst firing of ventral tegmental area dopamine neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103, 5167-5172.
- Lozada, A.F., Wang, X., Gounko, N.V., Massey, K.A., Duan, J., Liu, Z & Berg, D.K. (2012). Glutamatergic synapse formation is promoted by $\alpha 7$ -containing nicotinic acetylcholine receptors. *Journal of Neuroscience*, 32(22), 7651-7661. doi: 10.1523/JNEUROSCI.6246-11.2012
- Luck, W., Nau, H., Hansen, R. & Steldinger, R. (1985). Extent of nicotine and cotinine transfer to the human fetus, placenta and amniotic fluid of smoking mothers. *Developmental Pharmacology and Therapeutics*, 8(6), 384-395.
- Lv, J., Mao, C, Zhu, L., Zhang, H., Pengpeng, H., Xu, F., Liu, Y., Zhang, L. & Xu, Z. (2008). The effect of prenatal nicotine on expression of nicotine receptor subunits in the fetal brain. *Neurotoxicology*, 29(4), 722-726. doi:10.1016/j.neuro.2008.04.015
- Mancini, J., Milh, M., Livet, M.O. & Chabrol, B. (2009). Desarrollo neurológico. *EMC-Pediatría*, 44(1), 1-10. doi:10.1016/S1245-1789(09)70205-7
- Mansvelder, H.D. & McGehee, D.S. (2002). Cellular and synaptic mechanisms of nicotine addiction. *Journal of Neurobiology*, 53(4), 606-617. doi:10.1002/neu.10148

- Marshall, J. (2011). Infant Neurosensory Development: Considerations for Infant Child Care. *Early Childhood Education Journal*, 39(3), 175-181. doi:10.1007/s10643-011-0460-2
- Miller, D.K., Wilkins, L.H., Bardo, M.T., Crooks, P.A. & Dwoskin, L.P. (2001). Once weekly administration of nicotine produces long-lasting locomotor sensitization in rats via a nicotinic receptor-mediated mechanism. *Psychopharmacology (Berl)*, 156(4), 469-476.
- Mitchell, S.H. (1999). Measures of impulsivity in cigarette smokers and non-smokers. *Psychopharmacology*, 146(4), 455-464.
- Morgane, P.J., Austin-LaFrance, R., Bronzino, J., Tonkiss, J., Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T. & Galler, J.R. (1993). Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 17(1), 91-128.
- Morrison, C.F. & Stephenson, J.A. (1972). The occurrence of tolerance to a central depressant effect of nicotine. *British Journal of Pharmacology*, 46(1), 151-156.
- Myers, C.S., Taylor, R.C., Moolchan, E.T & Heishman, S.J. (2007). Dose-related enhancement of mood and cognition in smokers administered nicotine nasal spray. *Neuropsychopharmacology*, 33(3), 588-598. doi: 10.1038/sj.npp.1301425
- Myren, M., Mose, T., Mathiesen, L. & Knudsen, L.E. (2007). The human placenta--an alternative for studying fetal exposure. *Toxicology in vitro*, 21(7), 1332-1340.
- Narayanan, U., Birru, S., Vaglenova, J. & Breese, C.R. (2002). Nicotinic receptor expression following nicotine exposure via maternal milk. *Neuroreport*, 13(7), 961-963.
- Navarro, H.A., Seidler, F.J., Eylers, J.P., Baker, F.E., Dobbins, S.S., Lappi, S.E. & Slotkin, T.A. (1989). Effects of prenatal nicotine exposure on development of central and peripheral cholinergic neurotransmitter systems. Evidence for cholinergic trophic influences in developing brain. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 251(3), 894-900.

- Nestler, E.J. (2001). Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nature Reviews Neuroscience*, 2(2), 119-128. doi:10.1038/35053570
- Nestler, E. J. (2005). Is there a common molecular pathway for addiction? *Nature Neurosciences*, 8(11), 1445-1449. doi: 10.1038/nn1578
- Newhouse, P.A., Potter, A.S., Dumas, J.A. & Thiel, C.M. (2011). Functional brain imaging of nicotinic effects on higher cognitive processes. *Biochemical Pharmacology*, 82(8), 943-951. doi: 10.1016/j.bcp.2011.06.008
- Niaura, R., Bock, B., Lloyd, E.E., Brown, R., Lipsitt, L.P. & Buka, S. (2001). Maternal transmission of nicotine dependence: psychiatric, neurocognitive and prenatal factors. *American Journal on Addictions*, 10(1), 16-29. doi: 10.1080/105504901750160420
- Parameshwaran, K., Buabeid, M.A., Bhattacharya, S., Uthayathas, S., Kariharan, T., Dhanasekaran, M. & Suppiramaniam, V. (2013). Long term alterations in synaptic physiology, expression of $\beta 2$ nicotinic receptors and ERK1/2 signaling in the hippocampus of rats with prenatal nicotine exposure. *Neurobiology of learning and memory*, 106,102-111. doi: 10.1016/j.nlm.2013.07.007
- Park, M.K., Loughlin, S.E. & Leslie, F.M. (2006). Gestational nicotine-induced changes in adolescent neuronal activity. *Brain Research*, 1094(1), 119-126. doi: 10.1016/j.brainres.2006.04.001
- Pauly, J. R. & Slotkin, T.A. (2008). Maternal tobacco smoking, nicotine replacement and neurobehavioural development. *Acta Paediatrica*, 97(10), 1331-1337. doi: 10.1111/j.1651-2227.2008.00852.x
- Paz, R., Barsness, B., Martenson, T., Tanner, D. & Allan, A. (2007). Behavioral Teratogenicity Induced by Nonforced Maternal Nicotine Consumption. *Neuropsychopharmacology*, 32, 693–699. doi:10.1038/sj.npp.1301066

- Phelan, S. (2014). Smoking Cessation in pregnancy. *The American college of obstetricians and gynecologists*, 471, 1-3.
- Picciotto, M.R., Higley, M.J & Mineur, Y.S. (2012). Acetylcholine as a neuromodulator: cholinergic signaling shapes nervous system function and behavior. *Neuron*, 76(1), 116-129. doi: 10.1016/j.neuron.2012.08.036
- Pierce, R.C. & Kumaresan, V. (2006). The mesolimbic dopamine system: the final common pathway for the reinforcing effect of drugs of abuse?. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, 30(2), 215-238. doi: 10.1016/j.neubiorev.2005.04.016
- Pidoplichko, V.I., Noguchi, J., Areola, O.O., Liang, Y., Peterson, J., Zhang, T. & Dani, J.A. (2004). Nicotinic cholinergic synaptic mechanisms in the ventral tegmental area contribute to nicotine addiction. *Learning & Memory*, 11(1), 60-69. doi: 10.1101/lm.70004
- Platt, D.M., Rowlett, J.K. & Spealman, R.D. (2002). Behavioral effects of cocaine and dopaminergic strategies for preclinical medication development. *Psychopharmacology (Berl)*, 163(3-4), 265-282. doi: 10.1007/s00213-002-1137-8
- Poltavski, D.V. & Petros, T. (2006). Effects of transdermal nicotine on attention in adult non-smokers with and without attentional deficits. *Physiology & Behavior*, 87(3), 614-24. doi:10.1016/j.physbeth.2005.12.011
- Pontieri, F.E., Tanda, G. & Di Chiara, G. (1995). Intravenous cocaine, morphine, and amphetamine preferentially increase extracellular dopamine in the "shell" as compared with the "core" of the rat nucleus accumbens. *Proceedings of the National Academy of Science*, 92(26), 12304-12308.
- Redolar, D. (2008). Cerebro y adicción: neurobiología del refuerzo. Barcelona: UOC. pp: 428-436.

- Rice, D. & Barone, S. (2000). Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. *Environmental Health Perspectives*, 3, 511-533.
- Robinson, E.T. & Berridge, C.K. (2003). Addiction. *Annual Review of Psychology*, 54, 25–53.
- Roy, T.S., Andrews, J.E., Seidler, F.J. & Slotkin, T.A. (1998). Nicotine evokes cell death in embryonic rat brain during neurulation. *Journal of Pharmacology Experimental Therapeutics*, 287(3), 1136-1144. doi:10.1124/jpet.300.1.124
- Roy, T.S., Seidler, F.J. & Slotkin, T.A. (2002). Prenatal nicotine exposure evokes alterations of cell structure I hippocampus and somatosensory cortex. *Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 300(1), 124-133.
- Saal, D., Dong, Y., Bonci, A. & Malenka, R.C. (2003). Drugs of abuse and stress trigger a common synaptic adaptation in dopamine neurons. *Neuron*. 37(4):577-582. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00021-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00021-7)
- Schilström, B., Rawal, N., Mamedi-Engvall, M., Nomikos, G.G. & Svensson, T.H. (2003). Dual effects of nicotine on dopamine neurons mediated by different nicotinic receptor subtypes. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 6(1), 1-11.
- Semple, B. D., Blomgren, K., Gimlin, K., Ferriero, D. M. & Noble-Haeusslein, L.J. (2013). Brain development in rodents and humans: Identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species. *Progress in Neurobiology*, 106-107, 1-16. doi:10.1016/j.pneurobio.2013.04.001
- Shacka, J.J., Fennell, O.B. & Robinson, S.E. (1997). Prenatal nicotine sex-dependently alters agonist-induced locomotion and stereotypy. *Neurotoxicology and Teratology*, 19(6), 467-476.
- Silvette, H., Hoff, E.C., Larson, P. & Haag, H.B. (1962). The action of nicotine on central nervous system functions. *Pharmacological Reviews*, 14(1), 137-173.

- Slotkin, T., Cho, H. & Whitmore, W. (1986). Effects of prenatal nicotine exposure on neuronal development: selective actions on central and peripheral catecholaminergic pathways. *Brain Research*, *18*(5), 601-611.
- Slotkin, T.A. (2004). Cholinergic systems in brain development and disruption by neurotoxicants: nicotine, environmental tobacco smoke, organophosphates. *Toxicology and Applied Pharmacology*, *198*(2), 132-151. doi: 10.1016/j.taap.2003.06.001
- Sobrian, S.K., Johnston, M., Wright, J., Kuhn, D. & Ameis, K. (2008). Prenatal nicotine and/or cocaine differentially alters nicotine induced sensitization in aging offspring. *Annals of the New York Academic Sciences*, *1139*, 466–477. doi:10.1196/annals.1432.045
- Spinella, M. (2005). Compulsive behavior in tobacco users. *Addictive Behaviors*, *30*(1), 183-186. doi:10.1016/j.addbeh.2004.04.011
- Steketee, J.D. & Kalivas, P.W. (2011). Drug wanting: behavioral sensitization and relapse to drug-seeking behavior. *Pharmacological Reviews*, *63*(2), 348-365. doi:10.1124/pr.109.001933
- Stiles, J. & Jernigan, T.L. (2010). The basics of brain Development. *Neuropsychology Review*, *20*(4), 327-348. doi:10.1007/s11065-010-9148-4
- Stolerman, I.P., Bunker, P. & Jarvik, M.E. (1974). Nicotine tolerance in rats; role of dose and dose interval. *Psychopharmacology*, *34*, 317-324.
- Suemaru, K., Oishi, Y. & Gomita, Y. (1994). Characteristics of tail tremor induced by nicotine in rats. *Naunyn Schmiedebergs Archives of Pharmacology*, *350*(2), 153-157.

- Tizabi, Y., Russell, L.T., Nespor, S.M., Perry, D.C. & Grunberg, N.E. (2000). Prenatal nicotine exposure: effects on locomotor activity and central [125I] alpha-BT binding in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 66(3), 495-500. doi: 10.1016/S0091-3057(00)00171-4
- Torregrossa, M., Quinn, J. & Taylor, J. (2008). Impulsivity, compulsivity, and habit: the role orbitofrontal cortex revised. *Biological Psychiatry*, 63, 253-255. doi: 10.1016/j.biopsych.2007.11.014
- Trauth, J.A., Seidler, F.J., Ali, S.F. & Slotkin, T.A. (2001). Adolescent nicotine exposure produces immediate and long-term changes in CNS noradrenergic and dopaminergic function. *Brain Research*, 892(2), 269-280. doi:10.1016/S0006(00)03227-3
- Vaglenova, J., Birru, S., Pandiella, N.M. & Breese, C.R. (2004). An assessment of the long-term developmental and behavioral teratogenicity of prenatal nicotine exposure. *Behavioral Brain Research*, 150(1-2), 159-170. doi:10.1016/j.bbr.2003.07.005
- Vanderschuren, L.J. & Everitt, B.J. (2005). Behavioral and neural mechanisms of compulsive drug seeking. *European Journal of Pharmacology*, 526(1-3), 77-88. doi:10.1016/j.ejphar.2005.09.037
- Veid, J., Karttunen, V., Myöhänen, K., Myllynen, P., Auriola, S., Halonen, T. & Vähäkangas, K.(2011). Acute effects of ethanol on the transfer of nicotine and two dietary carcinogens in human placental perfusion. *Toxicology Letters*, 205(3), 257-264. doi:10.1016/j.toxlet.2011.06.014
- Vieyra-Reyes, P. (2008). Estudio del efecto antidepresivo y adictivo de la nicotina. Tesis de Doctorado en Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Villégier, A.S., Blanc, G., Glowinski, J. & Tassin, J.P. (2003). Transient behavioral sensitization to nicotine becomes long-lasting with monoamine oxidases inhibitors. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 76, 267–274.

- Volkow, N., Fowler, J. & Wang, G. (2003). Positron emission tomography and single-photon emission computed tomography in substance abuse research. *Seminars in Nuclear Medicine*, 33(2), 114-128. doi:10.1052/snuc.2003.127300
- Vossel, S., Thiel, C.M & Fink, G.R. (2008). Behavioral and neural effects of nicotine on visuospatial attentional reorienting in non-smoking subjects. *Neuropsychopharmacology*, 33(4), 731-738. doi: 10.1038/sj.npp.1301469
- Wang, H., Dávila-García, M.I., Yarl, W. & Gondré-Lewis, M.C. (2011). Gestational nicotine exposure regulates expression of AMPA and NMDA receptors and their signaling apparatus in developing and adult rat hippocampus. *Neuroscience*, 11(188), 168-181. doi:10.1016/j.neuroscience.2011.04.069
- Watkins, S.S., Epping-Jordan, M.P., Koob, G.F. & Markou, A. (1999). Blockade of nicotine self-administration with nicotinic antagonists in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 62(4), 743-751.
- Welzl, H., Bättig, K. & Berz, S. (1990). Acute effects of nicotine injection into the nucleus accumbens on locomotor activity in nicotine-naive and nicotine-tolerant rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 37(4), 743-746.
- WHO. (2012). *Global Report: Mortality Attributable to Tobacco*. Geneva: World Health Organization Fecha de consulta: 13 mayo-2014.
- http://whqlibdoc.who.int/publications/2012/9789241564434_eng.pdf
- Wickström, R. (2007). Effects of nicotine during pregnancy: human and experimental evidence. *Current Neuropharmacology*, 5(3), 213-222. doi: 10.2174/157015907781695955
- Winzer-Serhan, U.H. (2008). Long-term consequences of maternal smoking and developmental chronic nicotine exposure. *Frontiers in Bioscience*, 13, 636-649.

Wonnacott, S. (1990). The paradox of nicotinic acetylcholine receptor upregulation by nicotine. *Trends in Pharmacological Sciences*, *11*(6), 216-219.

Yildiz, D. (2004). Nicotine, its metabolism and an overview of its biological effects. *Toxicon*, *43*, 619-632. doi:10.1016/j.toxicon.2004.01.017

Zhu, J., Zhang, X., Xu, Y., Spencer, T., Biederman, J. & Bhide, P. (2012). Prenatal nicotine exposure mouse model showing hyperactivity reduced cingulate cortex volume, reduced dopamine turnover and responsiveness to oral methylphenidate treatment. *Journal Neuroscience*, *32*(27), 9410-9418. doi:10.1523/JNEUROSCI.1041-12.2012

Zuo, Y., Lu, H., Vaupel, D.B., Zhang, Y., Chefer, S.I., Rea, W.R., Moore, A.V., Yang, Y. & Stein, E.A. (2011). Acute nicotine-induced tachyphylaxis is differentially manifest in the limbic system. *Neuropsychopharmacology*, *36*(12), 2498-512. doi: 10.1038/npp.2011.139.