



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE PSICOLOGÍA**

**Alteraciones en los ritmos respiratorios  
producidas por la exposición a tolueno *in útero***

**TESIS**

Que para obtener el título de  
**Licenciada en Psicología**

**PRESENTA**

María Guadalupe Martínez Contreras

**DIRECTOR DE TESIS**

Dr. José Fernando Peña Ortega



Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2016



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## *AGRADECIMIENTOS*

*Al Dr. Fernando Peña por sus palabras de aliento, por sus consejos en tiempos difíciles y sobre todo, por haberme recibido en su laboratorio tantas veces y darme ánimos para continuar, porque de no haber sido así, no habría concluido este proyecto.*

*A mi revisor, el Dr. Octavio García y a mis sinodales, la Dra. Irma Yolanda del Río, el Dr. Óscar Arévalo y la Dra. Karina Simón por haber aceptado ser parte de mi jurado y haberme animado a continuar, especialmente a la Dra. Karina por su empatía y palabras de aliento; valoro mucho el tiempo y la disponibilidad de cada uno.*

*A las Dras. Sílvia Cruz y Paulina Soberanes-Chávez por su enorme contribución en el trabajo experimental de este proyecto.*

*Al Cinvestav-Sede Sur, al Instituto de Neurobiología, a la Facultad de Psicología y, por supuesto, a la Universidad Nacional Autónoma de México por ser los recintos donde me formé profesionalmente.*

*A mis padres, hermanos, profesores y amigos porque cada uno ha impactado de alguna forma mi desarrollo personal.*

## DEDICATORIA

*A mis hermanos Adriana Lizbeth y David Alejandro para que nunca posterguen sus planes y proyectos como lo hice yo, pero sí los concluyan, como lo estoy haciendo yo.*

*+ Por esas decisiones que no tienen vuelta atrás.*

*Debo mantener en mente que al tocar fondo  
no puedo ir a otro lugar más que hacia arriba*

## ÍNDICE

1. ANTECEDENTES	1
1.1 Centro Neumotáxico	2
1.2 Grupo Respiratorio Dorsal (GRD)	2
1.3 Grupo Respiratorio Ventral (GRV)	2
1.4 El Complejo Pre-Bötzinger (preBötC)	3
1.5 El Síndrome de Muerte Súbita del Lactante (SIDS)	8
1.6 Factores relacionados con la incidencia del SIDS	8
1.7 Etiopatología del SIDS	11
1.8 Exposición al humo del tabaco y SIDS	12
1.9 Los solventes volátiles y sus efectos sobre el organismo	18
1.10 Aspectos celulares relacionados con la exposición a solventes en el SNC	22
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	25
2.1 Objetivo	25
2.1.1 Objetivos específicos	26
2.2 Hipótesis	26
3. MATERIALES Y MÉTODOS	26
3.1 Exposición prenatal a tolueno (o aire)	26
3.2 Registros de los ritmos respiratorios	27
3.3 Registro de la respiración <i>in vivo</i>	27
3.4 Obtención de la Rebanada de Tallo Cerebral	28
3.5 Registro de la Actividad Poblacional del preBötC <i>in vitro</i>	29
4. ANÁLISIS DE DATOS	30
5. RESULTADOS	32
5.1 Efecto de la exposición prenatal a tolueno sobre la respiración <i>in vivo</i>	33
5.2 Efecto de la exposición prenatal a tolueno sobre la respiración ficticia <i>in vitro</i>	37
6. DISCUSIÓN	42
7. CONCLUSIÓN	47
8. ABREVIATURAS	48
9. REFERENCIAS	50

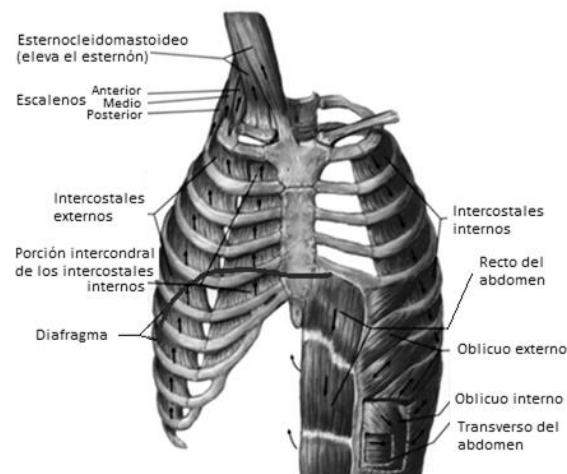
## RESUMEN

La respiración es un acto motor complejo que se lleva a cabo de manera rítmica y depende en gran medida de la actividad del Complejo Pre-Bötzinger (preBötC), una estructura localizada en el tallo cerebral, responsable de la generación de los ritmos respiratorios: eupnea, suspiros y boqueos. Los boqueos se presentan durante la fase terminal de la respuesta respiratoria a la anoxia y/o hipoxia y constituyen un mecanismo importante que posibilita la autoresucitación. El estudio de la generación de boqueos y de la autoresucitación tiene gran relevancia clínica, ya que se ha observado que aquellos bebés que mueren por el Síndrome de muerte súbita del lactante (SIDS por sus siglas en inglés *Sudden Death Infant Syndrome*), presentan una capacidad disminuida en la generación de ambos procesos. Existen varios factores medioambientales que aumentan la incidencia del SIDS, entre los que se encuentran la exposición *in útero* a drogas de abuso. Por lo anterior, decidimos evaluar si la exposición a tolueno *in útero* altera los ritmos respiratorios. El tolueno es un hidrocarburo utilizado como solvente y con fines de intoxicación, que juega un papel importante en la aparición del síndrome de apnea del sueño (SAS). En base a lo anterior, hipotetizamos que la exposición a tolueno *in útero*, modificará la respiración y la respuesta respiratoria a la hipoxia. Para probar esta hipótesis, evaluamos los efectos del tolueno en rebanadas de tallo cerebral que contienen al preBötC, así como en ratones neonatos, expuestos prenatalmente a dicha sustancia. Nuestros resultados muestran que la exposición a tolueno *in útero* no altera sustancialmente los ritmos respiratorios generados *in vitro* y que sólo produce cambios en la amplitud, la duración y el área de los boqueos generados *in vivo*. Sin embargo, dichas alteraciones no tienen repercusiones importantes en la posibilidad de autoresucitación, pues el total de sujetos y rebanadas de tallo cerebral registrados, reestablecieron el patrón respiratorio normal en condiciones de reoxigenación. Los resultados indican que la exposición a tolueno *in útero* no afecta mayormente la generación de los ritmos respiratorios y sugieren que, en base a ello, no debiera considerársele como factor de riesgo de SIDS.

## 1. ANTECEDENTES

El propósito principal de la respiración es llevar oxígeno ( $O_2$ ) a las células del cuerpo y eliminar el dióxido de carbono ( $CO_2$ ) producido por el metabolismo celular (Hilaire y Pásaro, 2003). La respiración es un acto motor complejo que se lleva a cabo de manera rítmica e involucra varias decenas de músculos que pertenecen a tres grupos funcionales descritos a continuación (Hilaire et al., 2003; Fig. 1):

- 1) Diafragma.** Músculo inspiratorio principal, insertado entre las costillas inferiores, que actúa como una bomba al moverse de arriba a abajo dentro de la caja torácica. Sus contracciones son directamente responsables de succionar aire hacia los pulmones (Hilaire et al., 2003).
- 2) Músculos “accesorios”.** Existen varios pares de estos músculos, como los intercostales internos y externos, los escalenos, los costales ascensores y los músculos abdominales. Todos se encargan de dar rigidez a la caja torácica y de controlar la eficiencia de las contracciones del diafragma (Hilaire et al., 2003).
- 3) Músculos de las vías aéreas superiores.** La laringe, la faringe y los músculos genioglosos controlan la apertura y cierre rítmico de las vías aéreas superiores. Sus contracciones regulan la tasa a la cual fluye el aire dentro y fuera de los pulmones (Hilaire et al., 2003).



**Figura 1. Los músculos Respiratorios.** Se muestra la localización y se indica la función de los siguientes músculos respiratorios: el esternocleidomastoideo, que eleva el esternón; los escalenos anteriores, los medios y los posteriores, que elevan las costillas; los intercostales internos que hacen descender las costillas, mientras que los intercostales externos las elevan; los oblicuos externos e internos, útiles en la espiración; los músculos rectos del abdomen, que limitan la inspiración máxima y favorecen la espiración y los músculos transversos del abdomen, involucrados en la espiración. Modificada de Netter, 2007.

Los músculos respiratorios están comandados por neuronas motoras (motoneuronas) localizadas en diferentes niveles del Sistema Nervioso Central (SNC) (Hilaire et al., 2003). Las motoneuronas frénicas, que controlan el diafragma, se localizan en el asta ventral de la porción cervical de la médula espinal (Hilaire et al., 2003). Las motoneuronas abdominales y de la caja torácica se localizan en el asta ventral de los segmentos toraco-lumbares y las motoneuronas de las vías aéreas superiores se localizan a nivel craneal (Hilaire et al., 2003). Todas estas motoneuronas disparan rítmicamente en respuesta a comandos centrales generados en los llamados centros respiratorios, que constituyen una red de interneuronas agrupadas en el tallo cerebral (Bianchi, Denavit-Saubié y Champagnat, 1995; Richter y Spyer, 2001; Feldman, Mitchell y Nattie, 2003; Hilaire et al., 2003; Peña y García, 2006). Los centros respiratorios se subdividen en distintas regiones funcionales que se describen a continuación (Fig. 2):

### **1.1 Centro Neumotáxico**

Esta región consiste de los núcleos respiratorios localizados en el puente, el núcleo parabraquial y el núcleo Kölliker-Fuse (Bianchi et al., 1995; Richter et al., 2001; Peña et al., 2006). Las neuronas propriobulbares del centro neumotáxico no son esenciales para la generación del ritmo respiratorio, pero lo enlentecen, influyen en la temporalidad de las fases respiratorias y regulan el flujo de entrada de aire a los pulmones durante el ejercicio y el sueño (Bianchi et al., 1995; Richter et al., 2001; Peña et al., 2006) (Fig. 2).

### **1.2 Grupo Respiratorio Dorsal (GRD)**

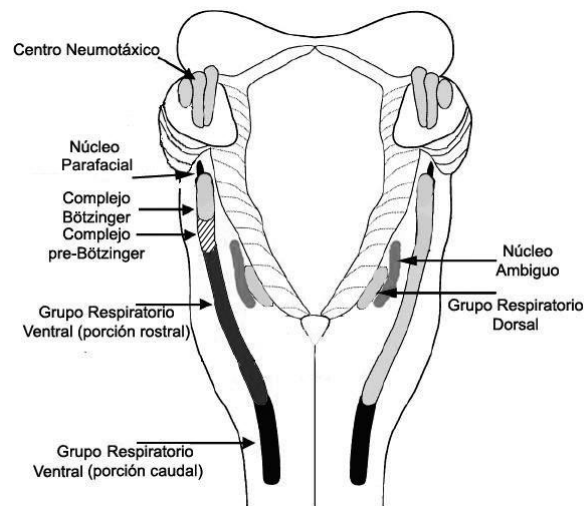
Esta región respiratoria secundaria se localiza en la parte dorsal de la médula oblonga, específicamente en el núcleo del tracto solitario (NTS) (Bianchi et al., 1995; Richter et al., 2001; Peña et al., 2006). Contiene neuronas bulboespinales inspiratorias estrechamente relacionadas con el procesamiento de la información de retroalimentación (Peña et al., 2006). Estas neuronas reciben aferencias vagales de adaptación lenta y rápida provenientes de receptores pulmonares y quimiorreceptores carotídeos (Bianchi et al., 1995; Richter et al., 2001; Peña et al., 2006) (Fig. 2).

### **1.3 Grupo Respiratorio Ventral (GRV)**

Finalmente, existe un grupo de neuronas espiratorias e inspiratorias (definidas por la etapa de la respiración durante la cual están activas; Peña et al., 2006), en la médula ventrolateral en la cercanía del núcleo ambiguo (NA), llamado Grupo Respiratorio Ventral (GRV) que, a su vez, se divide



en el Grupo Respiratorio Ventro-caudal (GRVc) y el Grupo Respiratorio Ventro-rostral (GRVr) (Bianchi et al., 1995; Richter et al., 2001; Peña et al., 2006) (Fig. 2). El GRVc está representado por el núcleo retroambiguo (NRA) y contiene, principalmente, neuronas premotoras espiratorias (Shen y Duffin, 2002) (Fig. 2). El GRVr contiene predominantemente neuronas bulboespinales entre las que se encuentran los generadores del ritmo respiratorio (Rekling y Feldman, 1998; Lieske, Thoby-Brisson, Telgkamp y Ramirez, 2000). El GRVr incluye al Complejo Bötzing, al Complejo Pre-Bötzing (preBötC) y al Grupo Respiratorio Parafacial (GRPF). Mientras que el Complejo Bötzing contiene neuronas espiratorias inhibitorias (Duffin, Tian y Prever, 2000), el preBötC y el GRPF parecen contener una población heterogénea de neuronas espiratorias e inspiratorias (Rekling et al., 1998). Algunas de las neuronas inspiratorias del preBötC tienen propiedades marcapaso que se consideran importantes para la generación del ritmo respiratorio (Onimaru, Arata y Homma, 1988; Smith, Ellenberger, Ballanyi, Richter y Feldman, 1991; Rekling et al., 1998; Onimaru y Homma, 2003; Peña, Parkis, Tryba y Ramirez, 2004; Janczewski y Feldman, 2006) (Fig. 2).

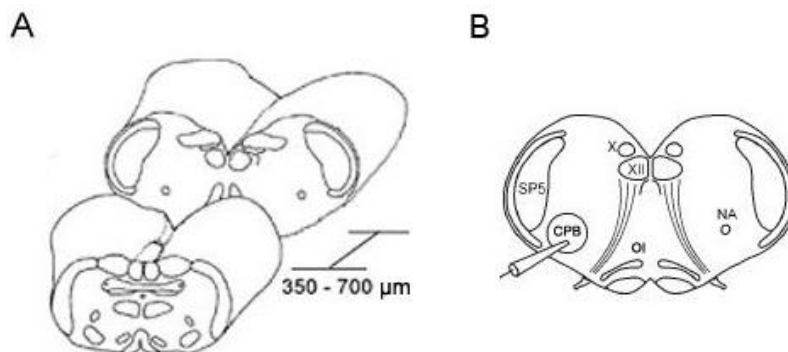


**Figura 2. Centros Respiratorios del tallo cerebral.** Vista dorsal del tallo cerebral en donde se muestra la localización del Centro Neumotáxico y de los Grupo Respiratorio Ventral y Dorsal. El área de las líneas diagonales indica la región crítica para la generación del ritmo respiratorio: el Complejo Pre-Bötzing (preBötC). Modificada de Rekling et al., 1998.

#### 1.4 El Complejo Pre-Bötzing (preBötC)

El Complejo Pre-Bötzing (preBötC) es el sitio crítico para la generación de los ritmos respiratorios (Feldman, Connelly, Ellenberger y Smith, 1990; Smith et al., 1991). Se encuentra entre el núcleo facial (NF) y el obex, y se localiza ventral al núcleo ambiguo (NA) y caudal al mencionado

Complejo Bötzinger (Rekling et al., 1998; Lieske et al., 2000). En uno de los estudios que se realizaron para establecer si el preBötC es necesario para generar el ritmo respiratorio, Smith y cols. (1991), utilizaron una preparación de tallo cerebral-médula espinal que mantiene dicho generador del ritmo respiratorio y realizaron cortes seriados de 350 a 600 micras de grosor, en sentido rostro caudal (Fig. 3), mientras registraban la actividad rítmica respiratoria en la salida motora (nervios frénicos). Con esta aproximación, determinaron que el corte apenas caudal al preBötC elimina la salida motora respiratoria en el nervio frénico, lo que demuestra la necesidad de este circuito para la generación de la respiración. Además verificaron que el preBötC es suficiente para la generación del ritmo respiratorio, ya que mantiene la generación del mismo cuando es aislado en una rebanada de tallo cerebral (Smith et al., 1991) (Fig. 3).



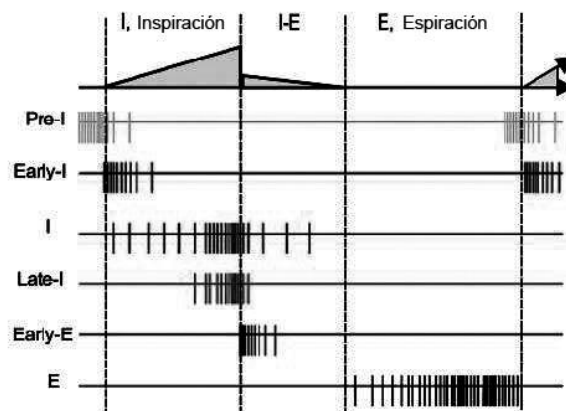
**Figura 3. Vista caudo-rostral del tallo cerebral y del generador del ritmo respiratorio. A)** Se muestra un esquema del bulbo raquídeo. La zona removida en el centro de la imagen corresponde a la rebanada que contiene al preBötC y que se muestra a su derecha. **B)** Representación de una rebanada transversal del tallo cerebral de ratón neonato mostrando la localización del complejo preBötzinger (preBötC) sobre el cual se muestra un electrodo de registro. Se observan las estructuras vecinas al preBötC que aparecen a este nivel del bulbo raquídeo: SP5 (núcleo espinal del trigémino), XII (núcleo del nervio hipogloso), X (núcleo dorsal motor del nervio vago), NA (núcleo ambiguo) y OI (oliva inferior). Modificada de Ramirez, Quellmalz y Wilken, 1997.

Cabe mencionar que la generación del ritmo respiratorio se refiere a la producción de los comandos respiratorios periódicos (Ramirez, Zuperku, Alheid, Lieske, Ptak y McCrimmon, 2002); mientras que la generación del patrón respiratorio es el control neuronal de la fuerza y la secuencia de la contracción de los distintos músculos involucrados en llevar a cabo el proceso respiratorio (Ramirez et al., 2002). El patrón de activación de los diferentes músculos respiratorios puede variar ya que algunas neuronas motoras están activas durante la espiración, mientras que otras lo están durante la inspiración (Ramirez et al., 2002). De acuerdo a la relación que existe entre la actividad

de las neuronas en el tallo cerebral y la fase de la respiración durante la cual se activan, se han definido seis diferentes tipos de neuronas respiratorias que se describen a continuación (McCrimmon, Ramirez, Alford y Zuperku, 2000; Hilaire et al., 2003) (Fig. 4):

- A) Neuronas *Pre-I*.** Disparan en la transición entre espiración e inspiración.
- B) Neuronas *Early-I*.** Disparan desde el inicio hasta la mitad de la inspiración.
- C) Neuronas *I*.** Disparan durante toda la inspiración.
- D) Neuronas *Late-I*.** Están activas al final de la inspiración.
- E) Neuronas *Post-I (o Early-E)*.** Disparan durante la etapa de transición de la inspiración a la espiración (fase IE).
- F) Neuronas *E*.** Disparan durante la espiración.

Dentro de esta variedad de neuronas respiratorias, las más predominantes son las Neuronas *I* y las Neuronas *E* (McCrimmon et al., 2000).

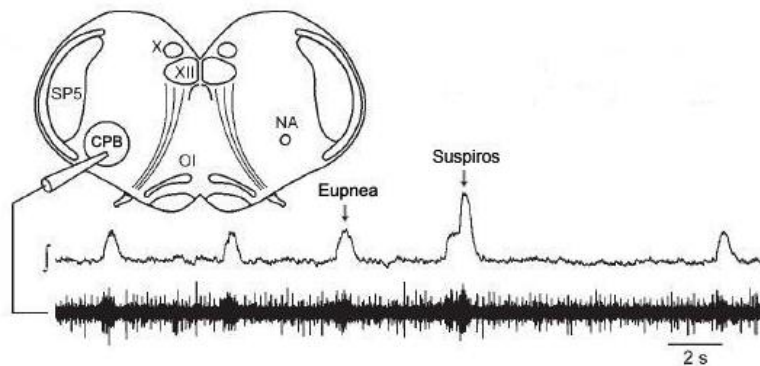


**Figura 4. Patrones de disparo de las neuronas que constituyen la red respiratoria del tallo cerebral del gato adulto.** Se muestran los patrones de descarga del nervio frénico (área gris en la parte superior) y de neuronas respiratorias del tallo cerebral (trazos verticales) que se usaron para distinguir tres etapas en el ciclo respiratorio [Inspiración (I), transición de inspiración-espiración (I-E) y espiración (E)] y los seis tipos de neuronas respiratorias (Pre-I, Early-I, I, Late-I, Early-E y E; ver texto). Modificada de Hilaire et al., 2003.

La ventilación del organismo también depende de los requerimientos del mismo y de ciertas condiciones medioambientales, se pueden generar varios patrones respiratorios cualitativamente distintos, que incluyen la respiración eupnéica (“normal”), los suspiros, los boqueos (Lieske et al., 2000), los jadeos, y la respiración periódica (durante el sueño) (Lieske, Thoby-Brisson y Ramirez, 2001). La generación de los comandos que dan origen a estos patrones respiratorios distintos

también se localiza en el SNC, que controla el patrón de la respiración a través de la manipulación del volumen y la duración de la inspiración y de la espiración, así como la frecuencia respiratoria (Ramirez et al., 2002).

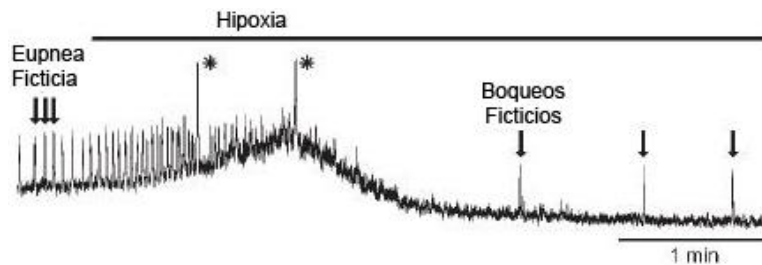
Las preparaciones *in vitro* que contienen al preBötC generan actividad respiratoria con tres patrones motores diferentes: eupnea, suspiros y boqueos (Lieske et al., 2000). Estos ritmos producidos *in vitro* son notablemente similares a los registrados *in vivo*, razón por la que se les conoce como patrones respiratorios “ficticios” (Lieske et al., 2000). *In vitro*, la eupnea se caracteriza por una actividad neuronal poblacional en forma de campana (Fig. 5) que se genera por la actividad de neuronas pre-inspiratorias, inspiratorias, post-inspiratorias y espiratorias (Ramirez et al., 1997). Los suspiros se caracterizan por un patrón de disparo bifásico, con una fase inicial que no se distingue de la eupnea, previo a una actividad de mayor amplitud (inspiración aumentada) (Fig. 5). Además, los suspiros se caracterizan por la presencia de una “apnea post-suspiro” que retrasa la aparición del patrón eupneico por 1.5-3 ciclos (Cherniack, von Euler, Glogowska y Homma, 1981; Orem y Trotter, 1993) (Fig. 5).



**Figura 5. Patrones de actividad respiratoria ficticia *in vitro* en condiciones de normoxia (eupnea y suspiros).** Representación esquemática de la rebanada transversal que contiene el preBötC donde se registra la actividad poblacional (trazo inferior) que es simultáneamente rectificadora e integrada (trazo superior). El preBötC genera, en condiciones de normoxia, ráfagas con dos amplitudes distintas: unas pequeñas, correspondientes a la actividad eupnéica y ráfagas bifásicas correspondientes a los suspiros. Modificada de Lieske et al., 2000. Las abreviaturas denotan: CPB, complejo preBötzingger; NA, núcleo ambiguo; OI, oliva inferior; SP5, núcleo espinal del trigémino; X, núcleo dorsal motor del nervio vago; XII, núcleo del nervio hipogloso.

El tercer patrón generado por el preBötC *in vitro*, los boqueos, se presenta durante la fase terminal de la respuesta respiratoria a la anoxia y/o hipoxia (Fig. 6). La respuesta respiratoria a la hipoxia es bifásica y se caracteriza por un aumento inicial en la frecuencia de la actividad eupnéica

y los suspiros, seguida por una depresión de la actividad respiratoria, durante la cual aparecen los boqueos que se caracterizan por un cambio en el patrón de la ráfaga poblacional, que cambia de la forma de campana de la eupnea, a una ráfaga de menor duración y de inicio súbito (Lieske et al., 2000).



**Figura 6. Respuesta respiratoria a la hipoxia registrada *in vitro*.** La respuesta respiratoria a la hipoxia se caracteriza por un aumento inicial en la frecuencia de la actividad eupnéica y los suspiros (indicados con asteriscos), seguida por una depresión de la actividad respiratoria durante la cual aparecen los boqueos (indicados con las flechas de la derecha). Modificada de Lieske et al., 2000.

La respuesta a la hipoxia *in vivo* también es bifásica (Bureau, Zinman, Foulon y Begin, 1984; Peña y Aguilera, 2007). Ésta comienza con un incremento en la frecuencia y la amplitud de la ventilación cuyo propósito es incrementar el suplemento de oxígeno. Posteriormente, se presenta un decremento de la frecuencia y la amplitud de la respiración, lo cual se ha interpretado como un mecanismo para ahorrar energía durante situaciones en las que los niveles de O<sub>2</sub> son bajos (Schuen, Bamford y Carroll, 1997; Peña y Ramirez, 2005). Si la hipoxia continúa se presentan los boqueos, caracterizados por inhalaciones súbitas de corta duración, los cuales constituyen un importante mecanismo que hace posible la autoresucitación (Guntheroth y Kawabori, 1975; Gozal, D., Gozal, E., Reeves y Lipton, 2002; Peña et al., 2007; Peña, Meza-Andrade, Páez-Zayas y González-Marín, 2008). La autoresucitación es la recuperación de la actividad eupnéica normal, posterior a un periodo de hipoxia o anoxia (Gozal et al., 2002; Peña et al., 2007).

El estudio de la generación de boqueos y del proceso de autoresucitación tiene una gran relevancia clínica ya que se ha observado que aquellos bebés que mueren por el Síndrome de muerte súbita del lactante (SIDS por sus siglas en inglés *Sudden Death Infant Syndrome*), presentan una capacidad disminuida en la generación de ambos procesos (Poets, Meny, Chobanian y Bonofiglio, 1999; Sridhar, Thach, Kelly y Henslee, 2003).

### **1.5 El Síndrome de Muerte Súbita del Lactante (SIDS)**

El SIDS, también conocido como muerte de cuna, es definido como “la muerte inesperada de un lactante que permanece sin explicación aun después de una investigación minuciosa del caso que incluye la realización de una autopsia completa, examen del lugar de la muerte y revisión de la historia clínica del infante” (Bergman, Beckwith y Ray, 1970). El SIDS es la causa principal de mortalidad postnatal en los países desarrollados (Anderson y Smith, 2003). En Latinoamérica, la tasa varía entre 0.1 y 5.4/1000 nacidos vivos (Rocca-Rivarola, 2003). Para México hay dos reportes, uno indica que la tasa de SIDS en el año 2000 fue de 0.6/1000 nacidos vivos (INEGI, 2004) y otro reporta que de 1998 al 2002 hubo un promedio de 245 casos de SIDS por año, con una tasa de 0.09/1000 nacidos vivos (SINAIS, 2004). Sin embargo, es importante hacer notar que las estadísticas en México no permiten saber la frecuencia real del SIDS, ya sea por subregistro o por mal diagnóstico (Martínez-Alcázar, Matías-Martínez, Rodríguez-Suárez, 2006). Este síndrome se presenta poco durante el primer mes de vida e incrementa su incidencia progresivamente durante los siguientes cuatro o cinco meses (Bubnaitiene, Kalediene y Kevalas, 2005). EL SIDS presenta un pico de incidencia entre los 2 y los 4 meses de edad, ocurriendo alrededor del 90% de los casos en los 6 primeros meses de vida (Brooks, 1996). Además, aparece más a menudo durante los meses fríos de otoño e invierno (Knöbel, Chen y Liang, 1995) y es 60% más frecuente en varones que en mujeres (L’Hoir, Engelberts, Van Well, Westers, Mellenbergh, Wolters y Huber, 1998; Mage y Donner, 2004; 2006; 2009; Richardson, Walker y Horne, 2010).

### **1.6 Factores relacionados con la incidencia del SIDS**

Existen varios factores medioambientales que aumentan la incidencia del SIDS, incluida la contaminación ambiental (Hoppenbrouwers, Calub, Arakawa, Hodgman, 1981; Lipfert, Zhang y Wyzga, 2000). La posición en la que el bebé duerme también ha sido relacionada con la ocurrencia de este síndrome. Por ejemplo, se ha demostrado que dormir a los bebés boca abajo aumenta el riesgo de muerte súbita (Engelberts y De Jonge, 1990; Beal y Finch, 1991; Dwyer, Ponsonby, Newman y Gibbons, 1991). De hecho, las campañas de modificación de esta práctica han reducido la mortalidad asociada al SIDS a la mitad y, en algunos casos, a una tercera parte (Hunt, 1998; Scragg y Mitchell, 1998). En México; sin embargo, se encontró que en las áreas de alojamiento conjunto y cuneros de los hospitales del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) donde se atienden nacimientos, los niños son acostados tanto en posición boca abajo como boca arriba sin el conocimiento de los beneficios o riesgos que esto implica y sin una promoción específica para

contender con el síndrome de muerte súbita del lactante (Flores-Huerta, Ramos-Hernández, Flores-Hernández, Villa-Contreras, Martínez-Salgado, 2006).

Otros factores asociados con el ambiente en el que el bebé duerme, que han sido relacionados con un incremento en la incidencia del SIDS, es el arropamiento excesivo en los niños de más de 70 días de edad, especialmente si se cubre la cabeza (Fleming, Blair, Bacon, Bensley, Smith, Taylor et al., 1996), el dormir a los bebés sobre un colchón blando (Ponsonby, Dwyer, Gibbons, Cochrane, Wang, 1993; Kemp, Livne, White y Arfken, 1998), o que se le cubra con pieles (Mitchell, Thompson, Ford y Taylor, 1998). En general, aquellas circunstancias que hagan la cama más blanda, aumentan claramente el riesgo de SIDS (Mitchell, Scragg y Clements, 1996; Drago y Dannenberg, 1999; Mitchell, Williams y Taylor, 1999; AAP, 2000). Por otra parte, dormir en la misma habitación que los padres o un adulto, disminuye el riesgo de SIDS y éste no aumenta si en la misma habitación duermen otros hermanos (Scragg, Mitchell, Stewart, Ford, Taylor, Hassall et. al., 1996). Sin embargo, la incidencia de este síndrome incrementa significativamente en situaciones de hacinamiento (Leach, Blair, Fleming, Smith, Platt, Berry et al., 1999). Por el contrario, el que los bebés duerman en el mismo cuarto que los padres, pero sin compartir la cama disminuye hasta un 50% el riesgo de SIDS (Horsley, Clifford, Barrowman et al., 2007). Lo anterior parece estar relacionado con el hecho de que, de este modo, se previenen más fácilmente eventos como sofocación, estrangulamiento o atrapamiento; que pueden ocurrir cuando el niño duerme en una cama de adulto (Sánchez Ruiz-Cabello, 2013). La Academia Americana de Pediatría no recomienda compartir la cama y aconseja que los bebés puedan ser llevados a la cama para alimentarlos o confortarlos, pero deben volver a su propia cuna cuando los padres se dispongan a dormir (AAP, 2011).

En cuanto a la madre, la incidencia del síndrome aumenta con el incremento en la edad materna (Peterson, Vanbelle y Chinn, 1982), pero también cuando ésta es menor de 20 años (Mathews, Menacker y MacDorman, 2002; Mitchell, Tuohy, Brun, Thompson, Clements, Stewart et al., 1997) o cuando la diferencia de edad entre los padres es mayor de diez años (Knobel, Yang y Chen, 1996). Por otra parte, en Taiwan se ha encontrado que un nivel de estudios alto de la madre se asocia con un incremento en la incidencia de SIDS (Knobel et al., 1996). Sin embargo; en otras investigaciones se ha hallado que el riesgo es mayor cuando el nivel de escolaridad de la madre es bajo (menos de doce años de estudios), mientras que se encuentra disminuido si la duración de los estudios es igual o superior a 16 años (Spiers y Guntheroth, 1999). El riesgo de SIDS también aumenta cuando la atención a la madre durante el embarazo ha sido inadecuada (Kohlendorfer,

Haberlandt, Kiechel y Sperl, 1997). Considerando que la etapa de mayor morbilidad en la vida del ser humano es el período perinatal, uno de los grandes retos a los que se enfrentan los servicios de salud mundialmente, es la detección y manejo oportuno del riesgo en pacientes embarazadas (Salinas, 1994). Se considera al control prenatal como un conjunto de acciones y procedimientos sistemáticos y periódicos, destinados a la prevención, diagnóstico y tratamiento de los factores que pueden condicionar morbilidad materna y perinatal, por lo cual el control prenatal debe ser eficaz y eficiente, lo cual implica que el equipo de salud entienda la importancia de su labor en esta etapa (Martínez-Campos, 2007). Una investigación desarrollada en Austria; país donde se proporciona atención prenatal y postnatal gratuita, siempre y cuando la madre acuda a 5 controles prenatales, o tres en caso de parto prematuro; se ha establecido una relación en la que se observa que si la madre acudió menos de cinco veces al obstetra, el riesgo de que el bebé muera de SIDS se multiplica por cinco (Kohlendorfer et al., 1997). De manera que los cuidados prenatales resultan una buena oportunidad para incrementar el conocimiento acerca del SIDS, así como para detectar problemas de salud de forma temprana (Kohlendorfer et al., 1997).

También hay un incremento del riesgo de SIDS cuando existe anemia materna durante el embarazo (Klonoff-Cohen y Edelstein, 2002). Asimismo, la ansiedad materna y el abuso de sustancias exacerba el número de apneas de los neonatos, que es un factor de riesgo para el SIDS (Kinney y Thach, 2009). Por otra parte, se ha observado que la historia de dos o más abortos previos (Li, 1993), así como la presencia de placenta previa o de desprendimiento placentario (Klonoff-Cohen, et al., 2002) en el curso del embarazo, se acompaña de un incremento en el riesgo de SIDS. Los factores perinatales que aumentan el riesgo de SIDS son: peso bajo al nacimiento (<2500 g), prematuridad (gestación <38 semanas), retardo del crecimiento intrauterino, embarazos múltiples y necesidad de cuidados intensivos neonatales (Oyen, Markestad, Skjaerven, Irgens, Helweg-Larsen, Alm et al., 1997; Leach et al., 1999; Mathews et al., 2002). La escasa ganancia de peso postnatal también se asocia con el riesgo de SIDS (Blair, Nadin, Cole, Fleming, Smith, Platt, et al., 2000), el cual se ve incrementado en familias de niños con síndrome de hipoventilación central congénita (Weese-Mayer, Silvestri, Marazita y Hoo, 1993) o con historia familiar de asma (Ponsonby, Dwyer, Kasl y Cochrane, 1995). Finalmente, y de manera relevante para este proyecto, se ha observado que el consumo de drogas durante el embarazo (principalmente metadona, heroína, cocaína y tabaco) incrementa la incidencia de este síndrome (Kandall, Gaines, Habel, Davidson y Jessop, 1993).



## 1.7 Etiopatología del SIDS

Es importante mencionar que, por definición, la patogenia del SIDS es aún desconocida. Sin embargo, cada vez hay más evidencias de alteraciones específicas asociadas con este padecimiento (Rocca, 1997; Rodríguez, 1999). En base a estas evidencias, se han formulado hipótesis diversas que tratan de explicar el SIDS. Una de ellas es la *teoría cardíaca*, según la cual la causa primaria de la muerte por SIDS sería una alteración del ritmo cardíaco, como consecuencia de alteraciones en la regulación del sistema nervioso vegetativo (SNV). Así, algunos autores han encontrado frecuencias cardíacas altas o con escasa variabilidad, arritmias e intervalos QT alargados en bebés que sufrieron de SIDS en comparación con los controles (Harper, Leake y Hoppenbrouwers, 1978; Leistner, Haddad y Epstein, 1980).

Una segunda hipótesis para explicar la patogénesis del SIDS es el modelo del triple riesgo, propuesto en 1994 por Filiano y Kinney, que plantea la interacción de múltiples factores como causantes de este síndrome. El primer factor es la vulnerabilidad inherente al individuo; el segundo factor se refiere a un periodo crítico de desarrollo; mientras que el tercer factor hace referencia a un estresor homeostático exógeno, como la asfixia. De acuerdo con este modelo, los tres factores deben presentarse simultáneamente para que el síndrome de muerte súbita del lactante ocurra (Filiano y Kinney, 1994).

Actualmente, la hipótesis más apoyada para explicar el SIDS es la *teoría respiratoria* según la cual, aquellos niños que mueren por SIDS tienen una deficiencia en los mecanismos que generan los boqueos y, por consecuencia, presentan una autoresucitación deficiente (Poets et al., 1999; Sridhar et al., 2003; Peña et al., 2005; Peña et al., 2006). Durante mucho tiempo, se consideró la apnea como la base causal del SIDS (Pérez, Hernández y Marrero, 2003). Uno de los factores de predisposición a la apnea es la inmadurez del control respiratorio tanto a nivel central como periférico (Pérez et al., 2003). Otro factor relacionado a la génesis de la apnea del lactante es la disminución en los reflejos que se originan en las vías respiratorias superiores, lo que puede alterar directamente el patrón respiratorio y afectar tanto el inicio como la terminación de la apnea (Thach, 1992). Normalmente, los niños se recobran espontáneamente de la apnea relacionada con el sueño (central, obstructiva o mixta) o de la asfixia posicional mediante la generación de boqueos (Fewell, 2005), pero aquellos bebés que sufren SIDS presentan una disminución significativa en la cantidad de boqueos generados durante condiciones de hipoxia (Poets et al., 1999; Sridhar et al., 2003; Peña et al., 2005; 2006), por lo que comprometen su capacidad de autoresucitar después de condiciones de hipoxia (Poets et al., 1999; Sridhar et al., 2003; Peña et al., 2005; 2006).

## 1.8 Exposición al humo del tabaco y SIDS

Uno de los factores de riesgo más importantes para el SIDS es la exposición al humo del tabaco (Mitchell y Milerad, 2006; Anderson y Cook, 1997; Cook y Carey, 1998). El humo del tabaco contiene un gran número de compuestos químicos que interfieren en el desarrollo normal del SNC (Arlien-Søborg y Simonsen Leif, 2012). Por ello, la exposición a los mismos *in útero* produce alteraciones nerviosas muy importantes que comprometen la viabilidad de los recién nacidos (Ortega, Ferrís, Berbel, Romero, Rubalcava, Martínez et al., 2006).

El humo del cigarro es químicamente complejo (Tabla 1), lo que dificulta el estudio de sus efectos sobre los organismos, así como los mecanismos de toxicidad participantes (Ortega et al., 2006; Tabla 1). A pesar de lo anterior, se ha demostrado que la exposición al humo del tabaco durante el embarazo puede producir sangrado (Einarson y Riordan, 2009), aborto espontáneo (Nash y Persaud, 1988; Einarson et al., 2009), embarazos ectópicos (Coste, Job-Spira y Fernandez, 1991; Bouyer, Coste, Fernandez et al., 1998), desprendimiento de la placenta (Andres y Day, 2000; Einarson et al., 2009), nacimientos prematuros (Windham, Hopkins, Fenster et al., 2000) y muerte fetal (Einarson et al., 2009). Además, se ha determinado que la exposición al humo del tabaco es uno de los factores principales de riesgo para el SIDS (Mitchell y Milerad, 2006), pues duplica su probabilidad de ocurrencia (Anderson y Cook, 1997; Cook y Carey, 1998). El programa de acción contra las adicciones del 2001, de la Secretaría de Salud de México señala que la muerte súbita del lactante, se presenta con mayor frecuencia (40%) entre hijos de padres fumadores, comparados con los niños que no están expuestos al humo del tabaco ambiental (SSA, 2001). Asimismo, la exposición al humo del tabaco tiene consecuencias para el desarrollo postnatal del producto, pues se ha observado que los hijos de madres fumadoras activas tienen un cociente intelectual menor, trastornos del aprendizaje y deterioro de atención (Eskenazi y Castorina, 1999; Ortega et al., 2006). Por su parte, los hijos de madres fumadoras pasivas también presentan un mayor riesgo de sufrir trastornos en el habla y en la inteligencia (Ortega et al., 2006).

Estudios en animales mostraron que la exposición al humo de cigarro durante el embarazo produce, en los fetos, una disminución de los movimientos respiratorios, mismos que son esenciales para el desarrollo normal y la maduración estructural de los pulmones (Harding, 1997). En humanos, también se encontró que la nicotina provoca una disminución de los movimientos respiratorios (Manning y Feyerabend, 1976). Pruebas sobre la función pulmonar de los neonatos, confirman una reducción en la permeabilidad de las vías respiratorias en bebés expuestos a los componentes del humo del tabaco *in útero* (Hanrahan, Tager, Segal, Tosteson, Castile et al., 1992; Hoo, Henschen,

Dezateux et al., 1998; Dezateux, Stocks, Dundas et al., 1999). Además, algunos investigadores han observado que existe una mayor reactividad de las vías respiratorias en los niños cuyas madres fumaron durante el embarazo (Dezateux, Stocks, Wade, Dundas y Fletcher, 2001; Gilliland, Li y Peters, 2001; Tepper, Williams-Nkomo, Martinez, Kisling, Coates y Daggy, 2005; Sandberg, Pinkerton, Poole, Minton y Sundell, 2011).

Fríguls y cols. (2009), realizaron una investigación para analizar la relación entre la exposición prenatal y postnatal al tabaco con la aparición de alteraciones respiratorias en los primeros 4 años de vida. En este estudio, encontraron que la exposición prenatal al tabaco se relaciona con mayor riesgo de hospitalización por infección respiratoria, especialmente en el segundo año de vida; mientras que la exposición postnatal se asocia con la aparición de sibilancias tardías (sonido que hace el aire al pasar por las vías respiratorias congestionadas), y aumento en la probabilidad del diagnóstico de asma a los 4 años. Los niños expuestos pre y postnatalmente al humo del tabaco, presentan más sibilancias, *roncus* persistentes, tos nocturna, episodios de resfriados y diagnósticos de asma. En otros estudios, también encontraron que el peso, la estatura y la relación cabeza-cuerpo de los niños al nacer, así como la circunferencia de la cabeza, son significativamente menores en los hijos de fumadoras persistentes, comparados con hijos de madres que nunca fumaron (Kallen, 2000; Fríguls, García-Algar, Puig, Figueroa, Sunyery Vall, 2009). Sin embargo, no se encontraron diferencias en la medida de la circunferencia de la cabeza de los niños cuando las madres embarazadas dejaron de fumar antes de las 32 semanas de gestación (Ernst, Moolchan y Robinson, 2001). Además, los niños cuyas madres dejaron de fumar durante el embarazo no mostraron deterioros en ninguno de los parámetros mencionados, comparados con los hijos de madres que nunca fumaron (Fríguls et al., 2009).

En 1996, Gospe y cols. demostraron que la exposición postnatal al humo de cigarro produce una disminución del número de células, así como un incremento del tamaño celular en el rombencéfalo (cerebelo, puente y bulbo raquídeo). También observaron una reducción del peso corporal, aunque no del peso del cerebro, que puede deberse a una hipertrofia celular compensatoria, dada la disminución del número de células. Debido al diseño del estudio, no se encontraron efectos en el desarrollo cerebral por la exposición *in útero* al humo de cigarro debido, posiblemente, a que cualquier efecto adverso pudo haberse normalizado después de las 9 semanas ocurridas antes de que las crías fueran examinadas (Gospe, Zhou y Pinkerton, 1996). Dadas estas circunstancias, en 2009 Gospe y cols. diseñaron un estudio donde examinaron el efecto de la exposición exclusivamente prenatal a los componentes del humo de cigarro en las crías de ratas

Sprague–Dawley, justo al final de la gestación. Seccionaron el cerebro de los animales tratados, en regiones que se desarrollan primordialmente durante el periodo prenatal (mesencéfalo, puente y bulbo raquídeo), el postnatal (cerebelo) o durante la etapa más tardía de la gestación y la vida postnatal temprana (corteza cerebral) y no encontraron efectos en los índices bioquímicos de desarrollo fetal del cerebro (Gospe, Joyce, Siebert, Jack y Pinkerton, 2009).

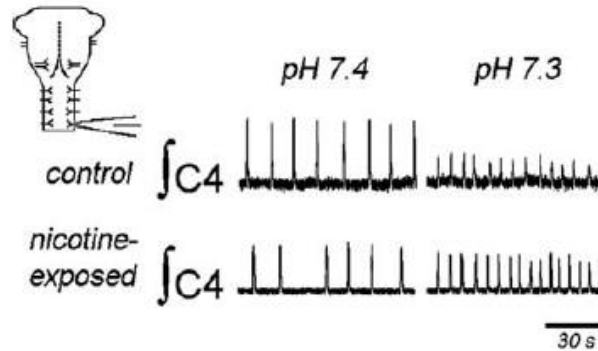
Se sabe que el tabaquismo durante el embarazo ocasiona disminución del peso al nacer y de la longitud del recién nacido (Juárez-Fuentes, 2008). Meyer y Comstock (1972), informaron que el efecto principal del tabaquismo materno en el peso del recién nacido es una reducción promedio de 150 a 300 g. Por su parte, Anderson y cols. (1984) estimaron que hay una reducción de 10-15 g en el peso del recién nacido por cigarro fumado por día; mientras que Kramer y cols. (1990) indicaron que se produce una reducción en el peso del recién nacido de 5% por paquete de cigarrillos fumados por día. En México, se realizó un estudio durante los años de 1993 a 2000 donde se observó que, en promedio, los hijos de madres fumadoras nacen con 200 g menos que los recién nacidos de madres no fumadoras (Juárez-Fuentes, 2008). Según el programa de acción contra las adicciones del 2001, de la Secretaría de Salud en México, fumar durante el embarazo provoca entre 20 a 30% de los casos de bajo peso en los recién nacidos; 14% de los partos prematuros y cerca del 10% de las defunciones infantiles (SSA, 2001). Cabe señalar que el efecto del tabaquismo materno durante el embarazo en el peso de los neonatos fue observado por primera vez en 1957 por Simpson; mientras que el primer reporte sobre los efectos adversos de la exposición al humo de tabaco ambiental en la salud de los niños se publicó en 1967 por Cameron.

De acuerdo con el informe del Instituto Nacional del Cáncer de los EUA (1999), existen datos epidemiológicos que apoyan fuertemente una relación causal entre la exposición al humo de tabaco ambiental en el hogar y el desarrollo de otitis media, ya sea aguda o crónica, especialmente entre los niños menores de 2 años de edad, siendo más importante la exposición prenatal al humo de cigarro, que la postnatal (Stathis, O'Callaghan, Williams, Najman, Andersen y Bor, 1999). Esta relación resulta de importancia para la presente tesis, pues uno de los componentes del humo de cigarro es el tolueno, sustancia que después de un consumo reiterado provoca pérdida de la audición (Ehyai y Freeman, 1983; Lazar, Ho, Melen, y Daghestani, 1983; Morata, Dunn, Kretschmer, Lemasters y Keith, 1993; Fuente y McPherson, 2006). Por tanto, se puede suponer alguna influencia de dicha sustancia en los efectos que tiene la exposición al humo del cigarro sobre la audición.

El componente del humo del tabaco que más se ha vinculado con disfunciones cardiorespiratorias posnatales, así como con el SIDS, es la nicotina (Slotkin, 1998; Nattie y Kinney,

2002; Hafström, Milerad, Sandberg y Sundell, 2005). Esto ha motivado experimentaciones en las que se ha observado que roedores neonatos expuestos prenatalmente a dicha sustancia presentan hipoventilación y una respuesta respiratoria disminuida ante periodos de hipoxia moderada (St. John y Leiter, 1993); así como menor capacidad para tolerar periodos de hipoxia severa (Fewell, Smith y Ng, 2000). Análogamente, se ha observado que los bebés expuestos prenatalmente al humo del tabaco reaccionan defectuosamente a periodos de hipoxia leve durante el sueño (Lewis y Bosque, 1995). Además, estos bebés presentan episodios de apnea obstructiva más frecuentes y prolongados (Kahn, Groswasser, Scottiaux, Kelmanson, Rebuffat, Franco et al., 1994). La nicotina proveniente del tabaco consumido por la madre aumenta la tasa cardíaca fetal, principalmente en el segundo trimestre de gestación, debido a una activación del sistema simpático (Rama-Sastry, Chance, Hemontolor y Goddijn-Wessel, 1998). En el tercer trimestre de gestación la nicotina disminuye la frecuencia cardíaca y reduce los movimientos fetales, lo que es sugerente de hipoxia fetal (Rama-Sastry et al., 1998). Adicionalmente, estudios en roedores indican que la exposición prenatal a nicotina produce una reducción en el número de autoresuscitaciones exitosas en casos de apnea primaria inducida por anoxia o hipoxia intermitente (Fewell y Smith, 1998). Sin embargo, estos mismos animales mostraron una generación normal de boqueos (Fewell et al., 1998), lo que sugiere que la exposición prenatal a nicotina puede afectar el proceso de autoresucitación a través de mecanismos independientes a la generación de boqueos (Campos, Bravo y Eugén, 2009).

En un estudio realizado por Eugén y cols. (2008), se demostró que la exposición a nicotina durante el periodo prenatal o postnatal temprano no modifica el número de crías por camada, ni el peso de las crías al nacer, ni su desarrollo postnatal. Sin embargo, los neonatos expuestos a nicotina hipoventilan y presentan una respuesta reducida a la hipoxia. En este mismo estudio se demostró que, en la preparación *en bloc* de tallo cerebral y médula espinal, se observa una respiración ficticia con ciclos más largos y más irregulares que sus controles (Fig. 7). Además, la respuesta respiratoria a la acidificación se encuentra reducida (Fig. 7), lo que indica que la exposición a nicotina afecta al generador del ritmo respiratorio y causa un deterioro en la quimiorrecepción central durante la vida postnatal temprana. Los autores proponen que debido a estos efectos, la respiración se vuelve altamente vulnerable, pues puede fallar ante demandas quimiosensitivas y que esto podría contribuir a las anomalías en la ventilación observadas en el SIDS (Eugén et al., 2008).



**Figura 7. Actividad respiratoria ficticia registrada en la preparación *en bloc* (tallo cerebral-médula espinal) de ratones neonatos normales y tratados con nicotina *in útero*.** Se observa que la respiración ficticia en la preparación obtenida de neonatos expuestos a nicotina, presenta ciclos más largos y más irregulares que sus controles. Además, su respuesta respiratoria a la acidificación (de pH 7.4 a pH 7.3) se encuentra reducida, mostrando un aumento en la frecuencia y mínima disminución en la amplitud de las ráfagas. Modificada de Eugenín et al., 2008.

Como ha sido descrito, la exposición pre y postnatal al humo de cigarro tiene efectos diversos sobre el desarrollo de padecimientos como el asma, la otitis media, el SIDS, los deterioros neurocognitivos y problemas de comportamiento de los niños. Sin embargo, los mecanismos por los cuales el tabaquismo materno durante el embarazo y la exposición al humo de tabaco ambiental se asocia con éstos efectos; así como los compuestos del humo del tabaco responsables de los mismos, no han sido establecidos (DiFranza, Aligne y Weitzman, 2004). Si bien mucha de la investigación se ha enfocado en la nicotina como la responsable del efecto del tabaquismo en el desarrollo fetal; el humo de cigarro está compuesto por miles de productos químicos y las contribuciones individuales de éstos son desconocidas (DiFranza et al., 2004). La tabla 1 presenta algunas sustancias encontradas en el humo del tabaco por Liu y cols. (2010). Esta determinación la hicieron con el cigarro de referencia 3R4F (detalles sobre el mismo se pueden encontrar Tabla 2 del estudio citado) (Liu, Feng, van Heemst y McAdam, 2010).

Sustancia	Unidades	Cigarro 3R4F
	µg/cig.	
Acetaldehido		484.6 ± 44.9
Acetona		250.1 ± 24.9
Óxido Nítrico		191.2 ± 9.3
Isopreno		134.9 ± 27.9
<b>Tolueno</b>		<b>49.3 ± 9.9</b>
Benceno		32.8 ± 4.4
1,3 Butadieno		23.6 ± 4.9
Monóxido de carbono	mg/cig.	11.06 ± 0.54
Tar (químicos tóxicos)		8.31 ± 0.37
Nicotina		0.722 ± 0.03

**Tabla 1. Sustancias contenidas en el humo del cigarro.** Se presenta la cantidad en µg y mg (promedio ±desviación estándar) de las sustancias encontradas en el humo del cigarro 3R4F de investigación, obtenidas por una máquina de fumar. Modificada de Liu et al., 2010.

De los compuestos enlistados en la tabla 1, el de interés para este trabajo es el tolueno, pues es una sustancia cuya exposición produce una amplia variedad de efectos en el SNC (LaDou, 1993). No es descabellado pensar que el tolueno, al formar parte de los componentes del humo del cigarro, podría contribuir a los efectos que la exposición al humo del tabaco produce sobre las diversas funciones del sistema nervioso, incluidas las alteraciones en la función respiratoria.

El tolueno es un hidrocarburo aromático derivado del benceno, utilizado comúnmente como solvente en cementos de hule, plásticos, lacas, resinas, pinturas, gomas y tintes entre otros. (Budavari, O'Neil, Smith, Heckelman y Kinneary, 1996). Por ello, la exposición al mismo sucede con mucha frecuencia y facilidad. Esto, es de particular importancia para este trabajo debido a que tanto las madres durante el periodo de gestación, como los recién nacidos, se encuentran en constante exposición a dicha sustancia no sólo a través de su exposición al humo del tabaco, sino a través del contacto con muebles recientemente barnizados, paredes recién pintadas y colchones nuevos cuya composición contiene materiales procesados o derivados del tolueno como la espuma de poliuretano. Debido a lo anterior, revisaremos a continuación las características de este solvente y sus efectos sobre el sistema nervioso maduro, así como en el desarrollo del mismo.

## 1.9 Los solventes volátiles y sus efectos sobre el organismo

El término solvente, o disolvente, abarca todas las sustancias gaseosas, líquidas o sólidas muy volátiles, psicoactivas en su mayoría, inflamables y casi siempre de olor intenso, por lo general agradable (Alarcón, 1984). Los disolventes orgánicos son fácilmente accesibles para los jóvenes, ya que se encuentran en numerosos productos de uso doméstico y comercial como la pintura, el pegamento, la gasolina, el líquido corrector, el combustible para encendedores y los aerosoles, que además son baratos y legales. Tales productos contienen típicamente una mezcla de disolventes, incluyendo hidrocarburos alifáticos (isobutano, n-butano, n-hexano y propano), hidrocarburos aromáticos (tolueno y xileno), hidrocarburos clorados (tetracloroetileno, 1, 1,1-tricloroetano y tricloroetileno) y cetonas (acetona, butanona y metil cetona iso-butilo) (Ramsey, Anderson, Bloor y Flanagan, 1989). Cabe mencionar que, si bien la exposición a dichas sustancias puede ocurrir accidentalmente o a nivel laboral, los solventes volátiles son considerados drogas de abuso tanto en México (Tapia, 2011), como en muchos otros países (Forster, Tannhauser y Barros, 1996; Cairney, Maruff, Burns y Currie, 2002; Johnston, O'Malley y Bachman, 2003; Pagare, Meena, Singh y Sahu, 2004; White y Hayman, 2004). En 1951, Clinger y Johnson reportaron los primeros casos de abuso de sustancias volátiles mediante inhalación, que en ese entonces se trató de la gasolina (Clinger y Johnson, 1951).

Con base en encuestas escolares en América y Australia se ha documentado un alto consumo de inhalables durante la adolescencia temprana (26% de estudiantes de 12 años; Johnston et al., 2003; White et al., 2004). Si bien, sólo una minoría reporta un consumo regular (poco más de 4%), se debe tomar en cuenta que la tasa de abuso de estas sustancias es mayor a la estimada, dada la cantidad de jóvenes en riesgo de convertirse en usuarios regulares, que no son incluidos en las encuestas realizadas, debido a su condición social (jóvenes sin hogar o que no asisten a la escuela; Lubman et al., 2008). Por otra parte, la tasa de consumo regular de inhalables en estudiantes varones en grados escolares avanzados, es doblemente mayor que la de mujeres (hombres de 17 años 2.2% - mujeres de 17 años 1.1%; White, 2001), a pesar de que las mujeres en grados escolares bajos reportan mayor prevalencia de consumo que los hombres (Johnston et al., 2003).

Jóvenes de bajos recursos, familias desintegradas o víctimas de abuso parecen tener los mayores índices de consumo de inhalables (Oetting, Edwards y Beauvais, 1988). Aunque también se ha observado un uso amplio de inhalables en comunidades indígenas (Beauvais y Oetting, 1988; Chalmers, 1991). En estas comunidades, tanto de Australia como de América del Norte, la tasa de prevalencia de la inhalación de gasolina entre los adolescentes es de 50-60%. Lo anterior parece



estar asociado con el aislamiento (tanto geográfico como social), la pobreza y el desempleo en estos grupos marginados, y no con cuestiones culturales (Cairney et al., 2002). Los altos índices de abuso de inhalables también se han documentado entre los niños de la calle que viven en América del Sur, Europa del Este y Asia (Forster et al., 1996; Pagare et al., 2004). De acuerdo con la Encuesta Nacional de Adicciones (ENA) de los años 2002 (INEGI, 2004), 2008 (Instituto Nacional de Salud Pública, 2008) y 2011 (INPRFM, 2012.), la tercer droga de abuso preferida por las mujeres mexicanas entre los 12 y 17 años de edad son los inhalables, después de la marihuana y la cocaína, con una prevalencia de 0.6% y 0.4%, respectivamente. Por otro lado, la Encuesta de Escuelas del Distrito Federal y zona conurbada 2009 revela que uno de cada diez estudiantes de escuelas secundarias y preparatorias dijo haber usado inhalables alguna vez, y según datos de la Encuesta de Estudiantes 2006 existe una comorbilidad alta entre el consumo de drogas y otras conductas problemáticas o de riesgo, como el tener relaciones sexuales sin protección, que es dos veces más frecuente entre las consumidoras de sustancias (6.8%) que entre las no consumidoras (2.3%), incrementando la posibilidad de un embarazo no planeado, no deseado y de alto riesgo (Villatoro-Velázquez, Gutiérrez-López, Quiroz del Valle, Moreno-López, Gaytán-López, Gaytán-Flores y et al., 2009). Los datos anteriores reflejan la problemática existente en la población femenina respecto al consumo de sustancias adictivas, que implica la exposición del producto a la sustancia durante el embarazo y a través de la lactancia (Flores-Ramos, 2012).

El abuso de solventes puede llegar a altas concentraciones de producto inhalado (>6000 ppm; Bowen, Batis, Paez-Martínez y Cruz, 2006). En algunos casos, los reportes exceden las 10000 ppm en periodos cortos (Bukowski, 2001). Esto ocurre mediante la aspiración del vapor directamente de un contenedor abierto; respirando a través de un trapo mojado con la sustancia o aumentando los efectos del vapor de los pegamentos y sustancias similares, al inhalarlos desde una bolsa de plástico en la que han sido vertidos para incrementar su concentración (Sharp y Rosenberg, 1992). La boca de la bolsa se coloca frente a la cara y se respiran los vapores hasta alcanzar la intoxicación (Faus, Soler, Pérez, Orosa y Cuenca, 1999), lo que representa en sí mismo un factor de riesgo, ya que puede ocurrir asfixia por la falta de oxígeno, sofocación por la adherencia de la bolsa de plástico a la boca y a la nariz, así como peligro de asfixia por aspiración de vómito (Guía para profesionales sobre el abuso de sustancias volátiles, 2011), ocurriendo así una muerte súbita (Shepherd, 1989).

Los efectos tóxicos de la exposición aguda a solventes son: irritación de los ojos y la nariz, sensación de embriaguez, disnea, ataxia, cefalea, náuseas, vómito, mareo, vértigo, lenguaje

farfullante, euforia, fatiga, somnolencia, debilidad, irritabilidad, nerviosismo, depresión y desorientación (Bolla-Wilson, Wilson y Bleecker, 1988; Stollery, Flindt y Ffom, 1988; Houck, Nebel y Milham, 1992). Si el consumo es crónico, se observan mioclonías, confusión, coma y convulsiones (Stollery et al., 1988; Houck et al., 1992) que pueden llegar hasta la pérdida del estado de alerta y muerte por depresión respiratoria (Bolla-Wilson et al., 1988).

En cuanto a la exposición crónica a los inhalables y sus efectos sobre el sistema nervioso, los síntomas que suelen señalarse con más frecuencia son: cefalea, depresión, ansiedad, fatiga, pérdida de la memoria (principalmente la de corto plazo) y dificultad para la concentración; que se traduce en el examen clínico como signos de deterioro de la memoria reciente, de la atención y de algunas funciones motoras y sensitivas (LaDou, 1993). Algunos de los efectos que Aydin y cols. (2002) encontraron al investigar las consecuencias del abuso crónico de solventes que contienen tolueno son insomnio, pérdida de la memoria, anosmia, temblor de extremidades, tinnitus, convulsiones, ataxia, rigidez muscular y disartria, (Aydin, Sencer, Demir, Ogel, Tunaci y Minareci O., 2002). También se han observado cambios en la materia blanca cerebral y cerebelar, desmielinización y gliosis, identificadas mediante imágenes de resonancia magnética craneal. (Eschobar y Aruffo, 1980; Rosenberg, Kleinschmidt, Davis, Dreisbach, Hormes y Filley, 1988; Xiong, Matthes y Jinkins, 1992; Yamanouchi, Okada, Kodama et al., 1995; Aydin et al., 2002). De manera relevante para esta tesis, la exposición a solventes también puede jugar un papel importante en el número de apneas durante el sueño (Laire, Viaene, Veulemans, Masschelein y Nemery, 1997) y en la aparición del síndrome de apnea del sueño (SAS) (Monstad, Mellgren y Sulg, 1992; De Haro, Jougard, Jahjah, Sainty, Chave y Cura, 1995).

Los efectos de la exposición al tolueno parecen deberse a un estado de hipokalemia que se asocia con debilidad, espasticidad muscular, oxigenación baja, arritmias cardiacas, entre otras complicaciones serias (Baskerville, 2001). El estado de hipokalemia deriva de la metabolización del tolueno, pues alrededor del 95% del tolueno inhalado es metabolizado en el hígado en forma de alcohol y ácido benzoico, el cual se combina con glicina para formar ácido hipúrico que produce la excreción tanto de amonio como de sodio y potasio, dando lugar a un estado de hipokalemia (Baskerville, 2001).

El abuso de tolueno es consistentemente asociado a malformaciones infantiles, incluyendo deformidades craneofaciales parecidas a las provocadas por el síndrome de alcoholismo fetal (SAF; Pearson, Hoyme, Seaver y Rimsza, 1994; Jones et al., 1998). Estudios en animales demuestran que la exposición materna repetida a altas dosis de tolueno tiene efectos adversos en el desarrollo

prenatal y la maduración postnatal temprana de las crías, produciendo retardos significativos en el desarrollo (Bowen et al., 2006). Ratonés a los que se les suministró agua potable con 16, 80 o 400 mg de tolueno/L (ppm) durante el embarazo y la lactancia dieron a luz crías con deficiencias en el rendimiento motor (Kostas y Hotchkin, 1981). Las crías también muestran alteraciones del comportamiento cuando hay antecedente de exposición prenatal aguda intermitente al tolueno. Por ejemplo, cuando ratas embarazadas fueron expuestas a 200, 400 o 2000 ppm de tolueno inhalado durante 60 minutos, 3 veces al día, en los días 12-17 de gestación, las crías del grupo de mayor exposición tuvieron rendimientos más limitados en las pruebas de comportamiento de reflejo de erección, fuerza prensil y la prueba de la pantalla invertida (Jones y Balster, 1997). Mientras que las ratas expuestas a 1800 ppm de tolueno por inhalación, durante 6 horas al día en los días 7-20 de gestación, dieron a luz crías con discapacidades de aprendizaje cuando se las sometió a la prueba del laberinto de agua de Morris (Hougaard, Hass, Lund y Simonsen, 1999).

Bowen y cols. (2009) expusieron ratas Sprague-Dawley preñadas, a distintas concentraciones de tolueno (8000, 12000 y 16000 ppm) por 30 min, 2 veces al día a partir del día 8 de gestación y encontraron malformaciones en las crías como dedos cortos o ausentes, cola enroscada, corta o ausente, enanismo, hocico y/o extremidades cortas, orejas mal posicionadas, proptosis, hepatomegalia, hidrocefalia, aumento o disminución del número de costillas, ausencia de vertebras sacras o coxis, defectos cardiacos como microcardia o cardiomegalia, así como microgastria o gastromegalia, órganos abdominales desplazados caudalmente, testículos ectópicos o desplazados y vejiga distendida o hipoplásica (Bowen, Irtenkauf, Hannigan y Stefanski, 2009). Cuando efectuaron un estudio similar, exponiendo a las ratas preñadas a concentraciones de 8000 o 12000 ppm de tolueno, dos veces al día, durante 30 minutos, desde el día de gestación 8 hasta el día 20, encontraron que la ganancia materna de peso durante la gestación es menor, mientras que el índice de malformaciones en las crías aumenta, así como la muerte postnatal temprana (Bowen y Hannigan, 2013).

La aplicación de dosis únicas diarias de tolueno por sonda nasogástrica (650mg/kg) a ratas preñadas durante los días de gestación 6 (DG6) a DG19 dieron lugar a crías con una reducción de 15% en el número de células del cerebro anterior y, si bien estas cifras volvieron a niveles normales al momento del destete, la reducción en la mielinización neocortical se presentó más allá del día postnatal 21 (P21) (Gospe y Zhou, 1998). La evaluación de la toxicidad reproductiva del tolueno en ratas Sprague-Dawley expuestas durante 95 días a concentraciones de hasta 2000 ppm durante 6 horas por día, antes y durante el apareamiento, durante la gestación y hasta el momento del destete

a la edad de P21; arroja que, con la concentración más alta (2000 ppm), si bien no se afectó el aumento de peso de la madre, sí se inhibió el crecimiento de las crías y se produjo un ligero aumento en la tasa de anomalías esqueléticas (Roberts, Bevans y Schreiner, 2003).

En el humano, se ha descrito un síndrome fetal de disolventes (FSS, por sus siglas en inglés *Fetal Solvent Syndrome*), con efectos similares a los del SAF. El FSS se ha observado en hijos de madres que abusaban de productos cuya composición está basada en el tolueno (Hannigan y Bowen, 2010; Bowen, 2011). Estos niños podían nacer con una cabeza de menor tamaño, el labio superior más delgado, orejas más pequeñas y otros signos similares a los observados en el SAF (Hannigan y Bowen, 2010; Bowen, 2011). Además, estudios de seguimiento muestran un retraso en el crecimiento y un deterioro persistente en las capacidades cognitivas, del habla y motrices (Jones y Balster, 1998; Hannigan et al., 2010; Bowen, 2011). Jones y Balster (1998) describieron a más de 100 niños expuestos *in útero* a solventes debido a abuso materno, los cuales presentaron anomalías craneofaciales, retraso en el crecimiento y disfunciones del SNC como microencefalopatía, malformaciones cerebrales, retraso mental, hiperactividad y problemas de atención asociados al abuso de tolueno, mismos que han sido observados en niños con desórdenes relacionados al SAF (Kodituwakku, 2007).

### **1.10 Aspectos celulares relacionados con la exposición a solventes en el SNC**

Los disolventes, incluido el tolueno, tienen un mecanismo de acción muy similar al del alcohol; sin embargo, son entre cien y mil veces más potentes que éste, lo que significa que a concentraciones mucho más bajas de las que necesita el alcohol, aumentan la acción de diversos neurotransmisores inhibidores (en particular el GABA), a la vez que disminuyen la función de los principales sistemas de neurotransmisión excitadora (Cruz, 2011). Muchos inhalables, incluido el tolueno, son moduladores alostéricos positivos del receptor GABA<sub>A</sub> y antagonistas no competitivos del subtipo NMDA de receptor a glutamato (Cruz, Mirshahi, Thomas, Balster y Woodward, 1998; Cruz, Balster y Woodward, 2000).

Williams y cols. (2005), expusieron ratas a tolueno (8000 ppm) durante 10 días (30 min. por día) y demostraron un incremento en las subunidades NR1 y NR2B de los receptores NMDA en la corteza prefrontal medial y de la subunidad NR2B en el núcleo *acumbens*, lo cual sugiere un aumento de la excitabilidad neuronal por exposición prolongada a este solvente (Williams, Stafford y Steketee, 2005). Esto es relevante para la respiración, pues la microinyección de antagonistas del receptor NMDA y no NMDA en la médula espinal cervical produce una depresión en la amplitud de

la ráfaga del nervio frénico (Bohmer, Schmid y Schauer, 1991; Kirkwood, Schmid, Otto y Sears, 1991), lo cual muestra que ambos tipos de receptores se activan por la liberación endógena de glutamato (Bohmer, Schmid y Schauer, 1991; Kirkwood, Schmid, Otto y Sears, 1991).

La exposición crónica a tolueno también incrementa la expresión de la subunidad  $\alpha 1$  del receptor GABA<sub>A</sub> en la corteza prefrontal medial, pero disminuye su expresión en el mesencéfalo ventral (Williams et al., 2005). En cuanto a la respiración, la activación de los receptores GABA por inyección intracerebroventricular de éste o de su anologo muscimol (Hedner, Hedner, Wessberg y Jonason, 1984), o la inyección intravenosa del ácido aminooxiacetico, que aumenta los niveles endógenos de GABA; produce una depresión en la ventilación mediante la reducción del volumen de aire en los pulmones, sin afectar la frecuencia respiratoria (Holtman, y King, 1988; Hoop, Systrom, Shih y Kazemi, 1988). Esta depresión a veces induce un episodio de apnea que se puede revertir mediante la administración de bicuculina, antagonista de los receptores GABA<sub>A</sub> (Yamada, Hamosh y Gillis, 1981). La aplicación local de glicina o GABA por microiontoforesis disminuye las tasas de disparo de las neuronas respiratorias (Denavit-Saubie, Champagnat y Rondouin, 1980; Fallert, Bohmer, Dinse, Sommer y Bittner, 1979; Kirsten, Satayavivad, St. John y Wang, 1978; Toleikis, Wang y Boyarsky, 1979); mientras que la aplicación local de antagonistas incrementa sus tasas de disparo (Bohmer, Dinse, Fallert y Sommer, 1979; Grelot, Iscoe y Bianchi, 1988; Wang, Boyarsky y Frazier, 1982).

La exposición crónica a altas concentraciones de tolueno incrementa la actividad dopaminérgica (Riegel, Zapata, Shippenberg y French, 2007; Lo, Wu, Sue y Chen, 2009). Esto también es relevante para el presente trabajo debido a que las neuronas dopaminérgicas parecen influir en las respuestas respiratorias a la hipoxia (Srinivasan, Lagercrantz y Yamamoto, 1989; Goiny, Lagercrantz, Srinivasan, Ungerstedt y Yamamoto, 1991). La actividad serotoninérgica también se ve afectada por la exposición crónica a altas concentraciones de tolueno (Castilla-Serna, Barragán-Mejía, Rodríguez-Pérez, García-Rillo y Reyes-Vázquez, 1993; Calderón-Guzmán, Espitia-Vázquez, López-Domínguez, Hernández-García, Huerta-Gertrudis, Coballase-Urritia, Juárez-Olguín, y García-Fernández, 2005a; Calderón-Guzmán, Hernández-Islas, Espitia-Vázquez, Barragán-Mejía, Hernández-García, Del Angel y Juárez-Olguín, 2005b). La serotonina (5-HT) además de promover el desarrollo neuronal durante la vida temprana (Hodges y Richerson, 2008), ejerce una profunda influencia en el ritmo respiratorio y su estabilidad (Richter, Manzke, Wilken y Ponimaskin, 2003). Como consecuencia, una modulación anormal de 5-HT en las redes neuronales involucradas en la respiración se ha relacionado con desórdenes respiratorios, incluyendo el SIDS (Hilaire, Voituron,

Menuet, Ichiyama, Subramanian y Dutschmann, 2010). Los efectos de la 5-HT en la respiración pueden diferir de acuerdo con el sitio de activación de los receptores, ya sea central o periférico. Cuando se administran por vía intravenosa, los agonistas de 5-HT deprimen la respiración pero tienen efectos opuestos cuando se administra intracerebroventricularmente o *in vitro* (Lambert, Friedman, Buchweitz y Gershon, 1978; Millhorn, Eldridge, Waldrop y Klingler, 1983; Morin, Monteau y Hilaire, 1991). Después de la aplicación local de antagonistas de 5-HT<sub>2</sub> en la médula espinal, ocurre una reducción de la actividad de las motoneuronas frénicas (Schmid, Bohmer y Merkelbach, 1990). Las neuronas de los núcleos del rafe que contienen 5-HT proyectan hacia el grupo respiratorio ventral (Connelly, Ellenberger y Feldman, 1989; Holtman, Marion y Speck, 1990), dorsal (Jiang, 1990) y a los núcleos motores frénicos (Holtman, Norman, Skirboll, Dretchenk, Cuello y Visser, 1984; Zhan, Ellenberger y Feldman, 1989). Estas proyecciones pueden representar el sustrato neuroanatómico para la integración de las respuestas cardiorespiratorias. Además, terminales serotoninérgicas han sido localizadas en neuronas respiratorias del grupo respiratorio dorsal (Schaffar, Kessler, Bosler y Jean, 1988; Jiang, 1990) y en las dendritas de las motoneuronas frénicas, lo que indica que la 5-HT puede modular la salida motora respiratoria (Pilowsky, De Castro, Llewellyn-Smith, Lipski y Voss, 1990). La inhibición *in vivo* de la síntesis de 5-HT por para-clorofenilalanina aumenta la frecuencia respiratoria, la ventilación y la respuesta respiratoria a CO<sub>2</sub> (Dióxido de carbono; Florez, Delgado y Armijo, 1972; Olson, Dempsey y Mccrimmon, 1979). Esta hiperventilación es revertida por la administración del precursor de 5-HT 5-hidroxitriptófano (5-HTP). Además, el 5-HTP administrado solo, así como los agonistas de 5-HT, deprimen la ventilación. Este efecto está potenciado por los inhibidores de la monoaminoxidasa, que inducen la acumulación de 5-HT (Armijo y Florez, 1974; Lundberg, Mueller y Breese, 1980; Mccrimmon y Lalley, 1982; Mueller, Lundberg y Breese, 1980; Mueller, Lundberg, Breese, Hedner, Hedner y Jonason, 1982).

Se ha comprobado que el aumento de los niveles cerebrales de catecolaminas mediante la administración de un inhibidor de la monoaminoxidasa provoca un aumento en la frecuencia respiratoria y en el volumen de aire en los pulmones (Florez et al., 1972). Los efectos de la exposición a tolueno sobre las concentraciones de monoaminas en el SNC se han investigado en la rata. Por ejemplo, en un estudio se administró tolueno mediante inhalación, en concentraciones de 0, 100, 300, o 1000 ppm y, después de una exposición continua de 8 horas, los animales fueron sacrificados y se determinaron las concentraciones de dopamina (DA), noradrenalina (NE), y 5-HT de todo el cerebro. Se encontró un aumento significativo en las concentraciones de DA después de la exposición a 100 ppm. Un análisis regional de las concentraciones de DA, NE, y 5-HT en ratas

expuestas a 1000 ppm de tolueno durante 8 horas indicó un aumento significativo en la concentración de DA en el estriado, un aumento significativo en las concentraciones de NE en la médula y el mesencéfalo, mientras que las concentraciones de 5-HT incrementaron significativamente en el cerebelo, bulbo raquídeo y cuerpo estriado (Rea, Nash, Zabik, Born y Kessler, 1984). Los mecanismos noradrenérgicos parecen también estar implicados en la maduración del generador del ritmo respiratorio (Budzinska, Von Euler, Kao, Pantaleo y Yamamoto, 1985). Además las neuronas noradrenérgicas participan en la activación simpática en respuesta al estrés respiratorio inducido por hipoxia (Budzinska et al, 1985).

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Como se ha visto en investigaciones anteriores, la exposición prenatal a sustancias contenidas en el humo del tabaco (nicotina, tolueno, etc.), produce alteraciones en la función del sistema nervioso tanto de humanos como de roedores neonatos, así como malformaciones craneofaciales, alteraciones cardíacas y respiratorias, retraso en el crecimiento, deterioro en las capacidades cognitivas, del habla y motrices. Particularmente, el tolueno provoca daño en el tejido pulmonar y la exposición a dicha sustancia durante el periodo gestacional da lugar a malformaciones craneofaciales, disminución neuronal y cambios en los mecanismos de neurotransmisión que podrían afectar la generación de la actividad respiratoria y los mecanismos que intervienen en la respuesta a la hipoxia.

De los componentes del humo del cigarro, por mucho, el más estudiado con respecto a sus efectos sobre la respiración ha sido la nicotina, sustancia que provoca una disminución de los movimientos respiratorios, una reducción en la permeabilidad de las vías respiratorias y una mayor reactividad de las mismas, en los niños cuyas madres fumaron durante el embarazo. Sin embargo, resulta de importancia indagar si, de manera independiente, la exposición gestacional a otro componente del humo del cigarro (el tolueno), ejerce efecto alguno sobre la respiración. Por ello se plantea el siguiente objetivo:

### **2. 1 Objetivo**

Caracterizar los efectos de la exposición a tolueno *in útero* sobre la respiración de ratones neonatos.

### 2.1.1 Objetivos específicos

1. Caracterizar el efecto de la exposición *in útero* a aire o a tolueno sobre el patrón respiratorio de ratones neonatos bajo condiciones de oxigenación normal (normoxia).
2. Caracterizar el efecto de la exposición *in útero* a aire o a tolueno sobre el patrón respiratorio ficticio en rebanadas de tallo cerebral bajo condiciones de normoxia.
3. Caracterizar el efecto de la exposición *in útero* a aire o a tolueno sobre la respuesta respiratoria a la hipoxia tanto *in vivo* como *in vitro*.

Con relación a los objetivos anteriores, se plantea la siguiente hipótesis:

### 2.2 Hipótesis

1. La exposición *in útero* a tolueno afectará la generación de los patrones respiratorios de ratones neonatos bajo condiciones de normoxia e hipoxia *in vitro*.
2. La exposición *in útero* a tolueno afectará la respiración de ratones neonatos bajo condiciones de normoxia e hipoxia *in vivo*.

## 3. MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1 Exposición prenatal a tolueno (o aire)

Para los experimentos se utilizaron ratonas preñadas de la cepa Swiss Webster, que se obtuvieron de bioterio del Cinvestav-Sede Sur y que se mantuvieron en cajas separadas, con un ciclo de luz:oscuridad de 12:12 horas, con acceso libre a agua y alimento con dieta estándar (Purina, México), en condiciones controladas de temperatura (20-25°C), regulada con un termostato electrónico.

La exposición de las ratonas preñadas a tolueno se llevó a cabo desde el día 7 hasta el día 19 de gestación (Soberanes-Chávez et al., 2013). Para ello, las hembras fueron colocadas en el fondo de una cámara de exposición estática a gases de 29 litros, la cual consiste en una jarra de cromatografía cilíndrica cubierta con una tapa de acrílico, con puertos de inyección y un ventilador que proyecta en la cámara por encima de una plataforma de malla de acero inoxidable (Soberanes-Chávez et al., 2013). En este sistema cerrado, una cantidad específica de tolueno (calculada con la ecuación de Nelson, 1971) se inyectó en papel filtro situado en la malla de alambre y se volatilizó por completo para generar una concentración de 8000 ppm. El ventilador se encendió dentro de los 5 segundos posteriores a la inyección de solvente para volatilizarlo y producir la concentración



deseada de vapor que se confirma con una medición en un espectrómetro infrarrojo (Miran 1AFoxboroAnalítica; Soberanes-Chávez et al., 2013).

Para la exposición al aire, otro grupo de hembras Swiss Webster con los mismos días de gestación fue colocado en una cámara con las mismas características y el ventilador se encendió pero sin sustancia alguna (Soberanes-Chávez et al., 2013). Con el fin de disminuir la influencia del estrés, a todas las hembras de ambos grupos se les permitió aclimatarse a la cámara de exposición durante dos días consecutivos, mediante su inclusión en las cámaras con los ventiladores funcionando durante 30 minutos. En el tercer día, se llevó a cabo la exposición experimental de los animales, ya sea al tolueno o al aire dos veces al día, durante 30 minutos cada una, a las 7 y 14 horas, cumpliendo así 12 días consecutivos de exposición.

El diseño del protocolo y la exposición al aire y al tolueno de las hembras gestantes se llevó a cabo en el laboratorio que dirige la Dra. Silvia Cruz en el Centro de Investigación y Estudios Avanzados (Cinvestav) sede Sur, por la Dra. Paulina Soberanes-Chávez.

### **3.2 Registros de los ritmos respiratorios**

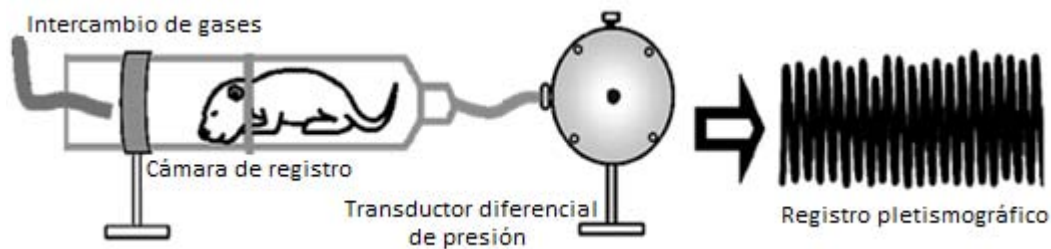
Para los registros de los ritmos respiratorios *in vivo* e *in vitro* se utilizaron crías hembra de 5 a 7 días de edad postnatal (P5 a P7). Las crías se mantuvieron con sus madres en cajas separadas con un ciclo de luz:oscuridad 12:12, con acceso libre a agua y alimento en condiciones controladas de temperatura (20-25°C), regulada con un termostato electrónico hasta que llegó el momento de utilizarlas. Aunque estas temperaturas están por debajo de la zona termoneutral de los ratones recién nacidos (Taylor, 1960), cada cría tuvo la oportunidad de seleccionar su temperatura ambiental al acurrucarse con sus hermanos y/o su madre (termorregulación conductual).

Las crías de cada camada fueron separadas de sus madres justo antes de ser transferidas a la cámara pletismográfica para el registro *in vivo* o ser sacrificadas para obtener la rebanada de tallo cerebral para el registro *in vitro*. La manipulación de los animales se condujo de acuerdo a los procedimientos de cuidado del animal descritos en la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) y fue aprobada por el Comité de Bioética del Cinvestav (CICUAL). Se realizaron todos los esfuerzos para minimizar el número de animales utilizados y su sufrimiento.

### **3.3 Registro de la respiración *in vivo***

Para los registros de la actividad respiratoria *in vivo*, los animales fueron transferidos a una cámara pletismográfica que se ajustó al tamaño de cada ratón (Fig. 8). La señal respiratoria

producida por el desplazamiento de la caja torácica se obtuvo empleando el método barométrico (Peña et al., 2007, 2008). La cabeza de los animales se mantuvo fuera de la cámara, de tal manera que los gases pudieran ser cambiados rápidamente según fuera necesario (Fig. 8). Los cambios en la presión dentro de la cámara, dados por el desplazamiento inspiratorio y espiratorio, se registraron a través de un transductor diferencial de presión (Grass Instruments, Quincy, MA, USA). La señal fue amplificada y filtrada a través de un amplificador DC (Grass Instruments, Quincy, MA, USA) y almacenada en una computadora para su análisis fuera de línea.



**Figura 8. Registros pleto-mográficos *in vivo*.** Se ilustra la manera en que se obtienen los registros pleto-mográficos *in vivo*. Cada sujeto es colocado dentro de la cámara de registro, de manera que sólo su cabeza quede en contacto con la manguera de intercambio de gases colocada al inicio de la cámara, mientras que el final de la misma se conecta a un transductor diferencial de presión. Modificada de González-Marín, 2008.

El patrón de respiración normal de los ratones (eupnea) se registró por 10 minutos durante los cuales cada animal estuvo en contacto con aire humidificado. La condición de hipoxia consistió en la sustitución de dicho gas por una mezcla de 95% de  $N_2$  y 5% de  $CO_2$  que se difundió, humidificada, frente al animal en registro durante 3 minutos. Después del periodo de hipoxia, los ratones se volvieron a exponer a aire humidificado durante 25 minutos como tiempo máximo para recuperar la actividad eupnéica. La recuperación de la respiración normal en este periodo se consideró como una autoresucitación exitosa. Durante todos los experimentos la temperatura ambiental se mantuvo constante.

### 3.4 Obtención de la Rebanada de Tallo Cerebral

Para la evaluación de la generación del ritmo respiratorio se utilizaron rebanadas transversales de tallo cerebral que contienen el preBötC y que pueden generar de manera espontánea el ritmo respiratorio *in vitro*. Para ello, cada animal fue decapitado a nivel espinal  $C_3/C_4$  y el tallo cerebral se aisló y se colocó en líquido cefaloraquídeo artificial (LCRa; solución de Krebs modificada) frío ( $\sim 4^\circ C$ ), que contiene (en mM): 119 de NaCl, 30 D-glucosa, 25 de  $NaHCO_3$ , 3 de KCl,

1 de MgCl<sub>2</sub> y 1.5 de CaCl<sub>2</sub>, a un pH de 7.4 mantenido por gaseo constante de gas carbónico (95% de O<sub>2</sub> y 5% de CO<sub>2</sub>). El tallo cerebral se colocó sobre un bloque de agar (al 4%), con un ángulo de 15° con respecto al plano de la navaja y con la parte rostral hacia arriba. Mediante el uso del Vibratomo 1000 Plus (The Vibratome Company, St. Louis, MO, USA) se cortaron rebanadas transversales de 200-250 μm serialmente en dirección rostro-caudal hasta alcanzar el margen rostral del preBötC. Esta región se encuentra caudal al Núcleo Facial (NF) y puede ser localizada por otra serie de estructuras que en nuestro caso funcionaron como referencia, tales como la Oliva Inferior (OI), el Núcleo del Tracto Solitario (NTS), el Núcleo del Nervio Hipogloso (XII) y el Núcleo Ambiguo (NA). En este sitio se realizó un corte de grosor variable dependiente de la edad del animal. El grosor necesario para una rebanada de tallo cerebral de un animal de 5 días de edad postnatal (P5) es de 530 μm y, con cada día de edad consecutivo, se añaden 10 μm al corte. Finalmente, se realizó un último corte de 700 μm; ésta última rebanada contiene al preBötC y genera el ritmo respiratorio *in vitro*.

### **3.5 Registro de la Actividad Poblacional del preBötC *in vitro***

La rebanada de tallo cerebral se colocó en una cámara de registro profundida con un flujo constante de LCRa saturado con gas carbónico (95% de O<sub>2</sub> y 5 % de CO<sub>2</sub>) mediante una bomba peristáltica RAININ (modelo RP-1, Rainin Instrument, LLC, Oakland, CA, USA), a una velocidad de 20 ml/min. y a una temperatura de 28-31°C\*. Después de estabilizar la rebanada durante 10 minutos, se agregó una cantidad suficiente de solución de Cloruro de potasio (KCl) 200 mM para elevar gradualmente su concentración en el LCRa de 3 a 8 mM en un lapso de 20 minutos con la finalidad de aumentar la excitabilidad y, por tanto, inducir el ritmo respiratorio en la rebanada.

Para evaluar el ritmo respiratorio *in vitro*, se llevaron a cabo registros de la actividad de campo (poblacional) del preBötC localizándolo con un microscopio estereoscópico marca UNICO y colocando un microelectrodo extracelular de succión sobre el mismo. Los microelectrodos se elaboraron con capilares de borosilicato, forjados en un estirador de pipetas Sutter Modelo 97-B (Sutter Instrument Company, Novato, CA, USA). La señal obtenida de los microelectrodos se amplificó de 5000 a 10000 veces y se filtró (ancho de banda=3-3000 Hz) con amplificadores Grass modelo 7P5B (Grass-Telefactor, An Astro-Med, Inc., West Warwick, RI, USA). Este registro además

---

\* Esta temperatura se adoptó porque la amplitud del ritmo era mayor y se mantenía estable. A mayores temperaturas, el ritmo tendía a deteriorarse probablemente porque el consumo de O<sub>2</sub> y de glucosa se incrementa (Suzue, 1984).

se rectificó e integró simultáneamente con un integrador Grass modelo 7P3B (Grass-Telefactor, An Astro-Med, Inc., West Warwick, RI, USA). La señal se digitalizó y se almacenó mediante el programa informático AxoTape (versión 2.0; Axon Instruments, Union City, CA, USA).

El patrón de respiración ficticia normal generado por el preBötC (eupnea ficticia) se registró por 10 minutos durante los cuales la rebanada fue mantenida en LCRa gaseado con gas carbógeno (95% de O<sub>2</sub> y 5 % de CO<sub>2</sub>). La condición de hipoxia consistió en la sustitución de dicho gas por una mezcla de gas nitrógeno (95% de N<sub>2</sub> y 5% de CO<sub>2</sub>) por 15 minutos. Después del periodo de hipoxia, las rebanadas fueron incubadas nuevamente con gas carbógeno durante 30 minutos. A continuación un resumen del protocolo experimental:

GRUPOS	SITUACIÓN	PROTOCOLO		
		Normoxia	Hipoxia	Reoxigenación
Aire (Control )	<i>In vivo</i>	10 min.	3 min.	25 min.
Tolueno	<i>In vitro</i>	25 min.	15 min.	30 min.

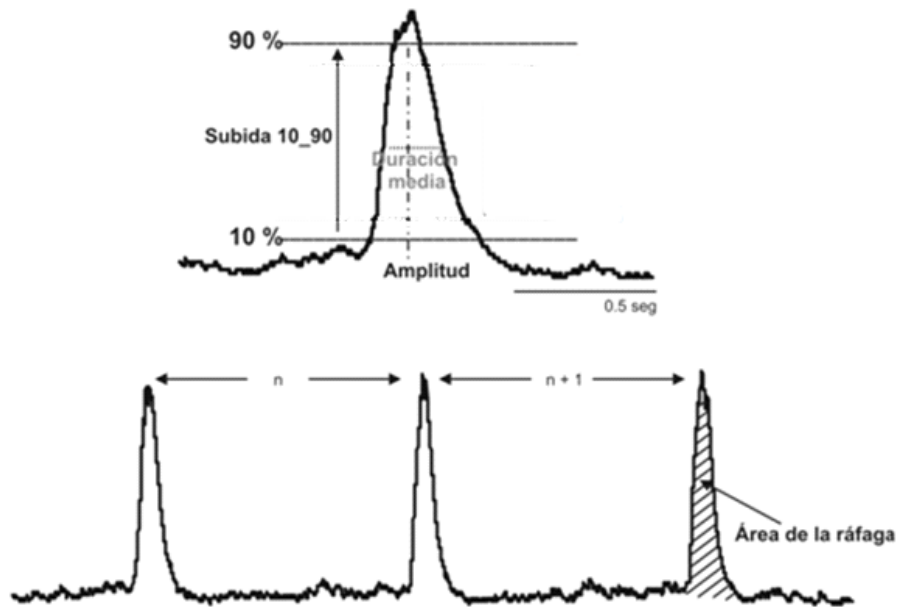
**Tabla 2. Protocolo experimental.** Para esta investigación se contó con 2 grupos: uno expuesto prenatalmente a tolueno (Tolueno) y otro expuesto prenatalmente a aire (Control). Los 2 grupos fueron divididos en 2 subgrupos para realizar los registros *in vivo* (n=7) y las preparaciones *in vitro* (n=7). Los sujetos registrados *in vivo* se sometieron a las siguientes condiciones de oxigenación: normoxia por 10 minutos, hipoxia por 3 minutos y reoxigenación por 25 minutos. Mientras que las rebanadas de tallo cerebral se sometieron a las siguientes condiciones: normoxia por 25 minutos, hipoxia por 15 minutos y reoxigenación 30 minutos.

#### 4. ANÁLISIS DE DATOS

El análisis de los datos obtenidos tanto en los registros *in vivo* como *in vitro* se llevó a cabo utilizando rutinas de análisis programadas en IGOR Pro (Wavemetrics, Lake Oswego, Oregon). Con dichas rutinas se cuantificaron los parámetros que se enlistan a continuación (Fig. 9):

- 1) **Amplitud:** Magnitud de la señal que se mide desde la línea basal hasta el ápice de una ráfaga.
- 2) **Área de la ráfaga:** Área que hay debajo de la ráfaga.
- 3) **Duración media:** Duración medida al 50% de la amplitud máxima.
- 4) **Frecuencia:** Número de ráfagas por unidad de tiempo.
- 5) **Irregularidad:** Medida de la periodicidad del ritmo respiratorio que se calcula con la ecuación que se ofrece en la figura 9.

6) **Tiempo de subida 10% a 90%:** Tiempo trascurrido entre el 10 y 90% de la amplitud máxima de cada ráfaga.



**Figura 9. Parámetros analizados.** Se ilustran los parámetros medidos en cada ráfaga poblacional de la eupnea (gráfica superior) y de los boqueos (gráfica inferior): Duración media, Amplitud, Tiempo de subida 10-90 y 20-80, Irregularidad y Área de la ráfaga. Modificada de González-Marín, 2008.

Se obtuvo el valor de la irregularidad de la respiración empleando la siguiente fórmula:

$S_n = \text{ABS}(P_n - P_{n-1})/P_{n-1}$  donde  $S_n$  es el valor del  $n$ -ésimo ciclo,  $P_n$  el valor de su periodo,  $P_{n-1}$  el periodo de la ráfaga inmediatamente anterior y ABS el valor absoluto. Los datos son expresados como media  $\pm$  error estándar.

Para el análisis, se tomaron las siguientes ventanas temporales:

1. En los registros *in vivo*:
  - a) De los 10 minutos de registro en condiciones de oxigenación normal, se tomaron hasta 11 ciclos observados dentro de los últimos 5 segundos de actividad previa al inicio de la hipoxia.
  - b) De los 3 minutos de registro en condiciones de hipoxia, se tomaron todos los boqueos observados después de la aceleración respiratoria.
  - c) De los 25 minutos de registro en condiciones de reoxigenación, se tomaron hasta 11 ciclos observados dentro de los últimos 5 segundos de actividad, siempre y cuando se observara actividad eupnéica, indicativa de autoresucitación.

2. En los registros *in vitro*:
  - a) De los 25 minutos de registro en condiciones de oxigenación normal, se tomaron hasta 11 ciclos observados dentro de los últimos 5 minutos de actividad.
  - b) De los 15 minutos de registro en condiciones de hipoxia, se tomaron hasta 11 boqueos observados dentro de los últimos 5 minutos de actividad.
  - c) De los 30 minutos de registro en condiciones de reoxigenación, se tomaron hasta 11 ciclos localizados dentro de los últimos 5 minutos de actividad.

Dado que el tamaño de nuestras muestras es pequeño y el objetivo de nuestra investigación requiere comparar las medias de datos que no pertenecen a los mismos sujetos, con la finalidad de identificar si existen diferencias entre los grupos expuestos a tolueno o a aire *in útero*, durante cada una de las 3 distintas etapas de oxigenación a las que fueron sometidos, se realizó la prueba estadística T de Student para muestras separadas, con varianzas distintas y se consideró una  $p < 0.05$  como indicativa de diferencias significativas entre los grupos.

## 5. RESULTADOS

A manera de resumen, los datos presentados en la tabla 3 muestran que, de la gran diversidad de parámetros evaluados tanto *in vivo* como *in vitro*, muy pocos mostraron cambios significativos entre el grupo de animales expuestos intrauterinamente a tolueno comparados con los animales expuestos al aire (Tabla 3). De hecho, únicamente se observaron diferencias significativas en tres características evaluadas en los registros *in vivo*. Estos fueron la amplitud, la duración y el área de los boqueos durante el periodo de hipoxia al cual fueron sometidos a los ratones *in vivo*.

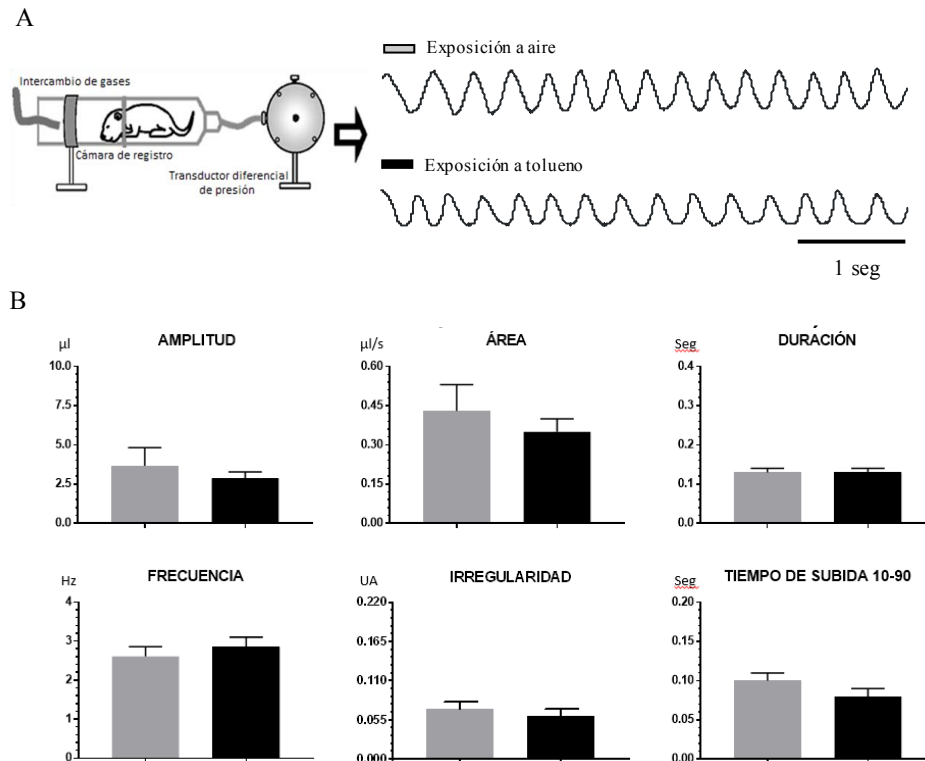
		IN VIVO			IN VITRO		
		Normoxia	Hipoxia	Reoxigenación	Normoxia	Hipoxia	Reoxigenación
Amplitud ( $\mu$ l- <i>in vivo</i> , UA- <i>in vitro</i> )	GA	3.66 $\pm$ 1.17	4.74 $\pm$ 0.80	2.81 $\pm$ 0.40	8.93 $\pm$ 0.55	9.66 $\pm$ 1.26	7.03 $\pm$ 0.71
	GT	2.86 $\pm$ 0.42	8.54 $\pm$ 1.15	2.84 $\pm$ 0.35	9.62 $\pm$ 0.92	7.64 $\pm$ 0.98	7.02 $\pm$ 0.68
	p	0.204	<b>0.006</b>	0.474	0.260	0.099	0.493
Área ( $\mu$ l/seg, UA- <i>in vitro</i> )	GA	0.43 $\pm$ 0.10	6.10 $\pm$ 1.11	0.35 $\pm$ 0.06	3.65 $\pm$ 0.42	4.18 $\pm$ 0.89	3.84 $\pm$ 0.70
	GT	0.36 $\pm$ 0.05	32.96 $\pm$ 8.68	0.35 $\pm$ 0.06	2.54 $\pm$ 0.58	3.08 $\pm$ 1.04	2.90 $\pm$ 0.42
	p	0.223	<b>0.008</b>	0.498	0.067	0.200	0.108
Duración media (Seg)	GA	0.13 $\pm$ 0.01	0.20 $\pm$ 0.02	0.13 $\pm$ 0.01	0.41 $\pm$ 0.03	0.38 $\pm$ 0.04	0.44 $\pm$ 0.05
	GT	0.13 $\pm$ 0.01	0.31 $\pm$ 0.04	0.15 $\pm$ 0.02	0.36 $\pm$ 0.01	0.44 $\pm$ 0.04	0.39 $\pm$ 0.02
	p	0.424	<b>0.014</b>	0.126	0.069	0.177	0.157
Frecuencia (Hz)	GA	2.61 $\pm$ 0.25	0.36 $\pm$ 0.09	2.21 $\pm$ 0.24	0.35 $\pm$ 0.04	0.25 $\pm$ 0.09	0.44 $\pm$ 0.05
	GT	2.85 $\pm$ 0.25	0.26 $\pm$ 0.05	1.80 $\pm$ 0.20	0.37 $\pm$ 0.05	0.33 $\pm$ 0.03	0.45 $\pm$ 0.06
	p	0.243	0.163	0.092	0.387	0.194	0.449
Irregularidad (UA)	GA	0.07 $\pm$ 0.01	2.59 $\pm$ 1.42	0.08 $\pm$ 0.01	0.29 $\pm$ 0.08	0.20 $\pm$ 0.05	0.25 $\pm$ 0.06
	GT	0.06 $\pm$ 0.01	3.05 $\pm$ 1.30	0.15 $\pm$ 0.06	0.30 $\pm$ 0.10	0.35 $\pm$ 0.08	0.30 $\pm$ 0.06
	p	0.407	0.401	0.185	0.471	0.052	0.257
Tiempo de subida 10-90 (Seg)	GA	0.10 $\pm$ 0.01	0.09 $\pm$ 0.01	0.09 $\pm$ 0.01	0.30 $\pm$ 0.04	0.27 $\pm$ 0.02	0.33 $\pm$ 0.04
	GT	0.08 $\pm$ 0.01	0.11 $\pm$ 0.01	0.08 $\pm$ 0.01	0.25 $\pm$ 0.02	0.30 $\pm$ 0.03	0.30 $\pm$ 0.01
	p	0.118	0.059	0.451	0.128	0.214	0.173

**Tabla 3. Parámetros cuantificados de los registros de respiración *in vivo* e *in vitro*.** Las columnas señalan los análisis *in vivo* e *in vitro*, así como las condiciones de oxigenación (normoxia, hipoxia, reoxigenación) a las que fueron sometidos tanto los animales, como las rebanadas de tallo cerebral. Las filas señalan los parámetros analizados (Amplitud, Área, Duración Media, Frecuencia, Irregularidad y Tiempo de subida 10-90), y el grupo al que pertenece la media y el error estándar comparados entre los grupos (GT, grupo expuesto prenatalmente a tolueno; GA, grupo expuesto prenatalmente a aire). Las celdas en tono gris denotan cambios significativos entre la media de los grupos en el parámetro, tipo de registro y condición de oxigenación señalados.

### 5.1 Efecto de la exposición prenatal a tolueno sobre la respiración *in vivo*

La evaluación de la respiración *in vivo* en condiciones de normoxia muestra que los esfuerzos respiratorios tienen una amplitud promedio de 3.66  $\pm$  1.17  $\mu$ l en los animales control y que dicha amplitud no fue alterada significativamente en los animales tratados con tolueno (2.86  $\pm$  0.42  $\mu$ l; Tabla 3; Fig. 10). La ventilación, medida como el área promedio de los esfuerzos respiratorios, fue de 0.43  $\pm$  0.10  $\mu$ l/seg en los animales control y dicha ventilación no fue alterada significativamente en los animales tratados con tolueno (0.36  $\pm$  0.05  $\mu$ l/seg; Tabla 3; Fig. 10). La duración promedio de los esfuerzos respiratorios fue de 0.13  $\pm$  0.01 seg en los animales control y fue idéntica en los animales tratados con tolueno (0.13  $\pm$  0.01 seg; Tabla 3; Fig. 10). La frecuencia de la respiración fue de 2.61  $\pm$  0.25 Hz en los animales control y no fue alterada significativamente en los animales tratados con tolueno (2.85  $\pm$  0.25 Hz; Tabla 3; Fig. 10). El índice de irregularidad de la respiración fue de 0.07  $\pm$  0.01 en los animales control y no fue alterado significativamente en los animales tratados con tolueno (0.06  $\pm$  0.01; Tabla 3; Fig. 10). Finalmente el inicio del esfuerzo

respiratorio medido como el tiempo de subida del 10 al 90 % de la amplitud máxima fue de  $0.10 \pm 0.01$  seg en los animales control y no fue alterado significativamente en los animales tratados con tolueno ( $0.08 \pm 0.01$  seg; Tabla 3; Fig. 10).

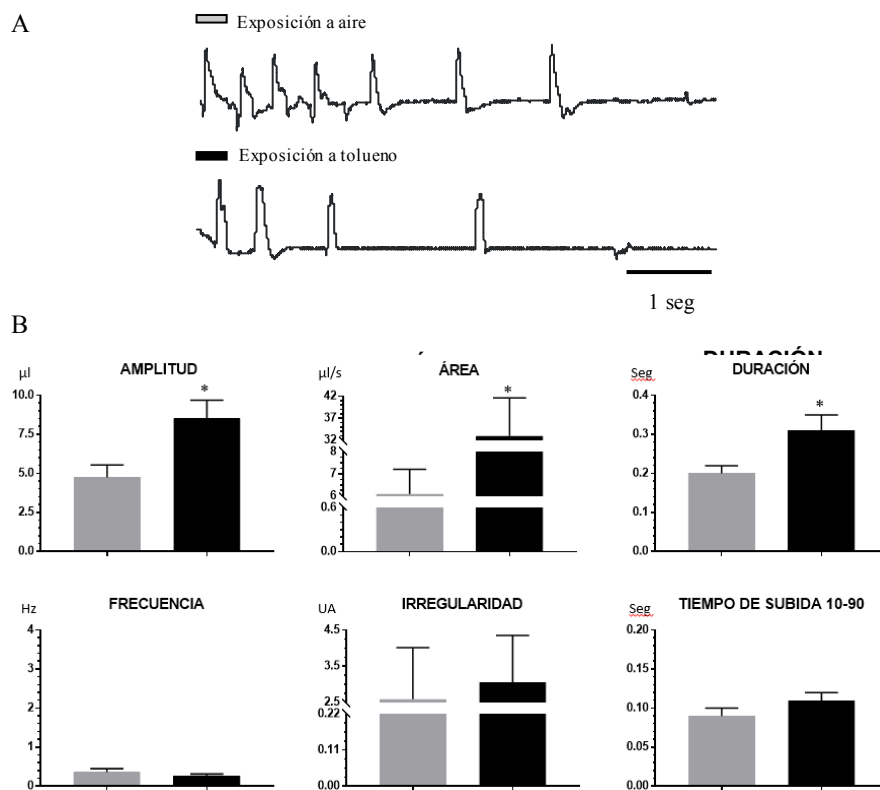


**Figura 10. La exposición a tolueno *in útero* no modifica la respiración en condiciones de normoxia *in vivo*.** A) Se ilustran trazos obtenidos mediante pletismografía, representativos de la actividad respiratoria de ratones neonatos expuestos a aire (trazo superior) y a tolueno (trazo inferior) *in útero*, bajo condiciones de oxigenación normal. B) Se muestran las cuantificaciones (media  $\pm$  error estándar) de los parámetros analizados tanto del ritmo respiratorio (Frecuencia e Irregularidad), como del patrón del mismo (Duración, Área, Amplitud y Tiempo de subida), representativos de la actividad respiratoria de ratones neonatos expuestos a aire (barras grises) y a tolueno (barras negra) *in útero*, bajo condiciones de oxigenación normal. Nótese que no se hallaron diferencias significativas entre los grupos para ninguno de los parámetros analizados.

La evaluación de la respuesta respiratoria a la hipoxia *in vivo* muestra que los boqueos tienen una amplitud promedio de  $4.74 \pm 0.80$  µl en los animales control y que dicha amplitud aumentó significativamente en los animales tratados con tolueno ( $8.54 \pm 1.15$  µl; Tabla 3; Fig. 10). La ventilación, medida como el área promedio de los boqueos, fue de  $6.10 \pm 1.11$  µl/seg en los animales control y dicha ventilación fue significativamente mayor en los animales tratados con tolueno ( $32.96 \pm 8.68$  µl/seg; Tabla 3; Fig. 10). La duración promedio de los boqueos fue de  $0.20 \pm$

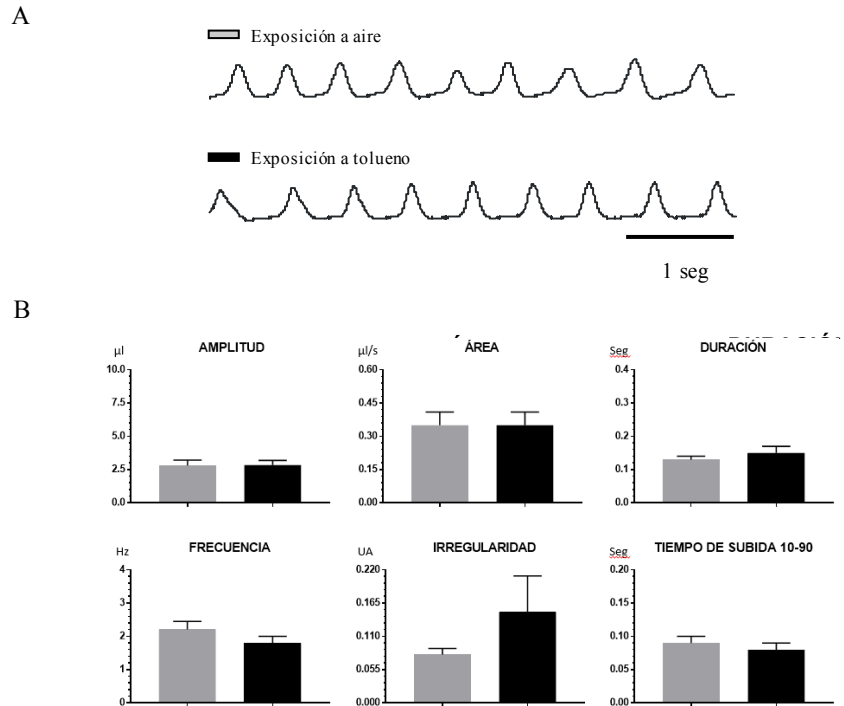


0.02 seg en los animales control y resultó mayor en los animales tratados con tolueno ( $0.31 \pm 0.04$  seg; Tabla 3; Fig. 10). La frecuencia de los boqueos fue de  $0.36 \pm 0.09$  Hz en los animales control y no fue alterada significativamente en los animales tratados con tolueno ( $0.26 \pm 0.05$  Hz; Tabla 3; Fig. 10). El índice de irregularidad de los boqueos fue de  $2.59 \pm 1.42$  en los animales control y no fue alterado significativamente en los animales tratados con tolueno ( $3.05 \pm 1.30$ ; Tabla 3; Fig. 10). Finalmente, el inicio del esfuerzo respiratorio medido como el tiempo de subida del 10 al 90 % de la amplitud máxima fue de  $0.09 \pm 0.01$  seg en los animales control y no fue alterado significativamente en los animales tratados con tolueno ( $0.11 \pm 0.01$  seg; Tabla 3; Fig. 10).



**Figura 11. La exposición a tolueno *in útero* produce un aumento en la Amplitud, el Área y la Duración de los boqueos en condiciones de hipoxia *in vivo*. A) Se ilustran trazos obtenidos mediante pletismografía, representativos de la actividad de boqueo de ratones neonatos expuestos a aire (trazo superior) y a tolueno (trazo inferior) *in útero*, bajo condiciones de hipoxia. B) Se muestran las cuantificaciones (media  $\pm$  error estándar) de los parámetros analizados tanto del ritmo respiratorio (Frecuencia e Irregularidad), como del patrón del mismo (Duración, Área, Amplitud y Tiempo de subida), representativos de la actividad de boqueo de ratones neonatos expuestos a aire (barras grises) y a tolueno (barras negras) *in útero*, bajo condiciones de hipoxia. Nótese que la Amplitud, el Área y la Duración de los boqueos fueron mayores en el grupo expuesto a tolueno.**

La evaluación de la respiración *in vivo* en condiciones de reoxigenación muestra que los esfuerzos respiratorios tienen una amplitud promedio de  $2.81 \pm 0.40 \mu\text{l}$  en los animales control y que dicha amplitud no fue alterada significativamente en los animales tratados con tolueno ( $2.84 \pm 0.35 \mu\text{l}$ ; Tabla 3; Fig. 10). La ventilación, medida como el área promedio de los esfuerzos respiratorios, fue de  $0.35 \pm 0.06 \mu\text{l}/\text{seg}$  en los animales control y fue idéntica en los animales tratados con tolueno ( $0.35 \pm 0.06 \mu\text{l}/\text{seg}$ ; Tabla 3; Fig. 10). La duración promedio de los esfuerzos respiratorios fue de  $0.13 \pm 0.01 \text{ seg}$  en los animales control y dicha ventilación no fue alterada significativamente en los animales tratados con tolueno ( $0.15 \pm 0.02 \text{ seg}$ ; Tabla 3; Fig. 10). La frecuencia de la respiración fue de  $2.21 \pm 0.24 \text{ Hz}$  en los animales control y no fue alterada significativamente en los animales tratados con tolueno ( $1.80 \pm 0.20 \text{ Hz}$ ; Tabla 3; Fig. 10). El índice de irregularidad de la respiración fue de  $0.08 \pm 0.01$  en los animales control y no fue alterado significativamente en los animales tratados con tolueno ( $0.15 \pm 0.06$ ; Tabla 3; Fig. 10). Finalmente, el inicio del esfuerzo respiratorio, medido como el tiempo de subida del 10 al 90 % de la amplitud máxima, fue de  $0.09 \pm 0.01 \text{ seg}$  en los animales control y no fue alterado significativamente en los animales tratados con tolueno ( $0.08 \pm 0.01 \text{ seg}$ ; Tabla 3; Fig. 10).

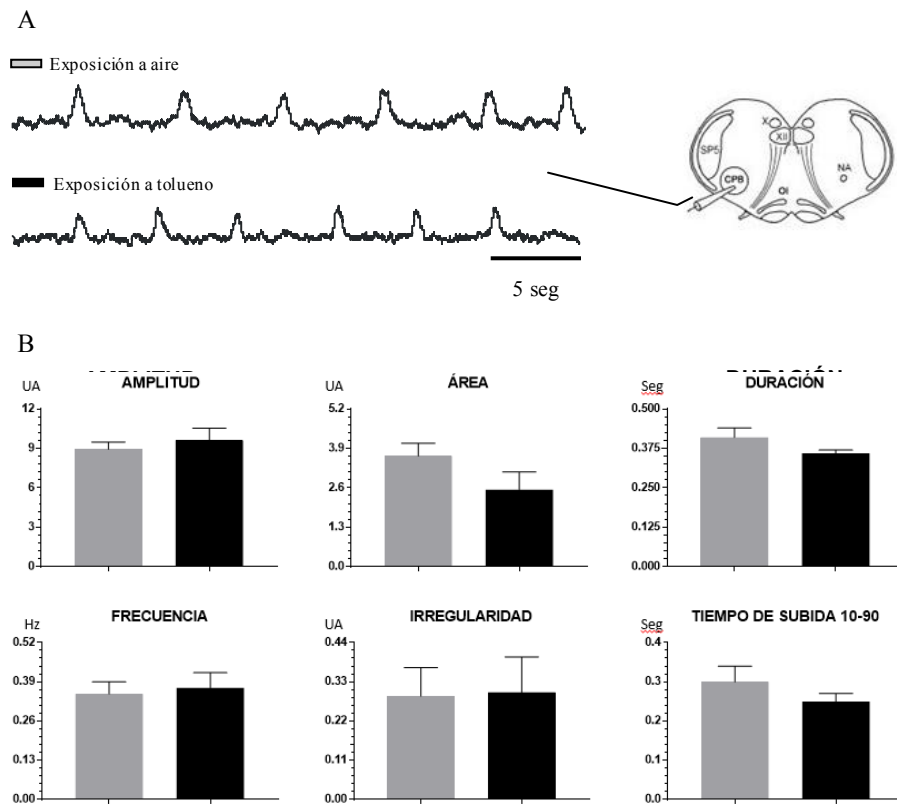


**Figura 12. La exposición a tolueno *in útero* no modifica la respiración en condiciones de reoxigenación *in vivo*.** **A)** Se ilustran trazos obtenidos mediante pletismografía, representativos de la actividad respiratoria de ratones neonatos expuestos a aire (trazo superior) y a tolueno (trazo inferior) *in útero*, bajo condiciones de reoxigenación. **B)** Se muestran las cuantificaciones (media  $\pm$  error estándar) de los parámetros analizados tanto del ritmo respiratorio (Frecuencia e Irregularidad), como del patrón del mismo (Duración, Área, Amplitud y Tiempo de subida), representativos de la actividad respiratoria de ratones neonatos expuestos a aire (barras grises) y a tolueno (barras negras) *in útero*, bajo condiciones de reoxigenación. Nótese que no se hallaron diferencias significativas entre los grupos para ninguno de los parámetros analizados.

## 5.2 Efecto de la exposición prenatal a tolueno sobre la respiración *in vitro*

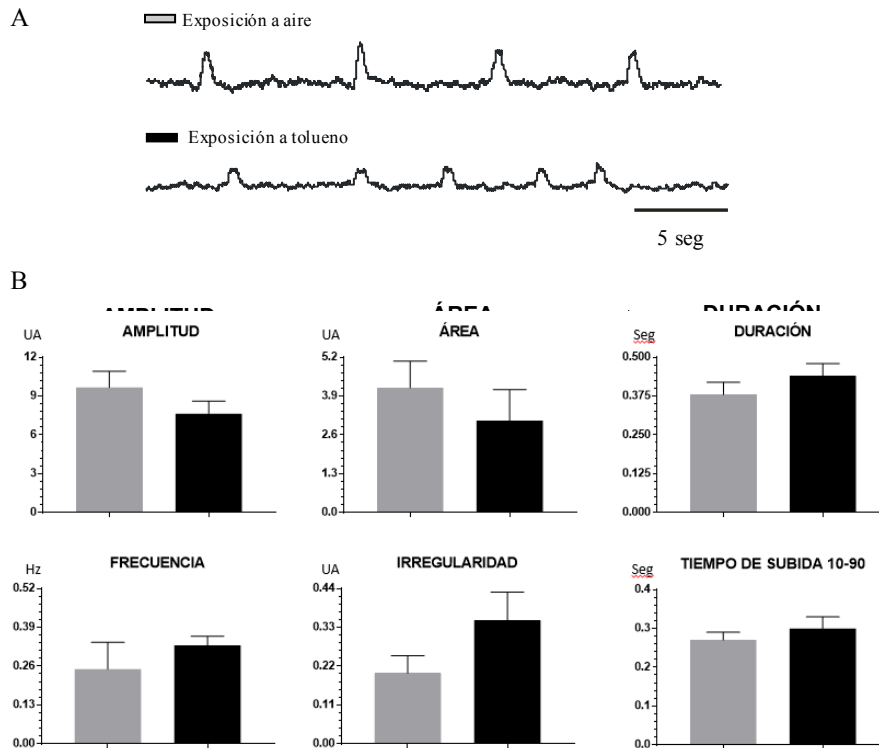
La evaluación de la respiración ficticia *in vitro* en condiciones de normoxia muestra que la actividad eléctrica generadora de los esfuerzos respiratorios tiene una amplitud promedio de  $8.93 \pm 0.55$  unidades arbitrarias (UA) en los animales control y que dicha amplitud no fue alterada significativamente en los animales tratados con tolueno ( $9.62 \pm 0.92$  UA; Tabla 3; Fig. 10). La ventilación, medida como el área promedio de la actividad eléctrica generadora de los esfuerzos respiratorios, fue de  $3.65 \pm 0.42$  UA/seg en los animales control y dicha ventilación no fue alterada significativamente en los animales tratados con tolueno ( $2.54 \pm 0.58$  UA/seg; Tabla 3; Fig. 10). La duración promedio de la actividad eléctrica generadora de los esfuerzos respiratorios fue de  $0.41 \pm 0.03$  seg en los animales control y no fue alterada significativamente en los animales tratados con tolueno ( $0.36 \pm 0.01$  seg; Tabla 3; Fig. 10). La frecuencia de las ráfagas respiratorias fue de  $0.35 \pm$

0.04 Hz en los animales control y no fue alterada significativamente en los animales tratados con tolueno ( $0.37 \pm 0.05$  Hz; Tabla 3; Fig. 10). El índice de irregularidad de las ráfagas respiratorias fue de  $0.29 \pm 0.08$  en los animales control y no fue alterado significativamente en los animales tratados con tolueno ( $0.30 \pm 0.10$ ; Tabla 3; Fig. 10). Finalmente, el inicio de la actividad eléctrica generadora del esfuerzo respiratorio, medido como el tiempo de subida del 10 al 90 % de la amplitud máxima, fue de  $0.30 \pm 0.04$  seg en los animales control y no fue alterado significativamente en los animales tratados con tolueno ( $0.25 \pm 0.02$  seg; Tabla 3; Fig. 10).



**Figura 13. La exposición a tolueno *in útero* no modifica la respiración ficticia en condiciones de normoxia *in vitro*.** **A)** Se ilustran trazos obtenidos mediante registro electrofisiológico, representativos de la actividad respiratoria ficticia del preBötC, proveniente de rebanadas de tallo cerebral obtenidas de ratones neonatos expuestos a aire (trazo superior) y a tolueno (trazo inferior) *in útero*, bajo condiciones de oxigenación normal. **B)** Se muestran las cuantificaciones (media  $\pm$  error estándar) de los parámetros analizados tanto del ritmo respiratorio ficticio (Frecuencia e Irregularidad), como del patrón del mismo (Duración, Área, Amplitud y Tiempo de subida), representativas de la actividad respiratoria ficticia del preBötC, proveniente de rebanadas de tallo cerebral obtenidas de ratones neonatos expuestos a aire (barras grises) y a tolueno (barras negras) *in útero*, bajo condiciones de oxigenación normal. Nótese que no se hallaron diferencias significativas entre los grupos para ninguno de los parámetros analizados.

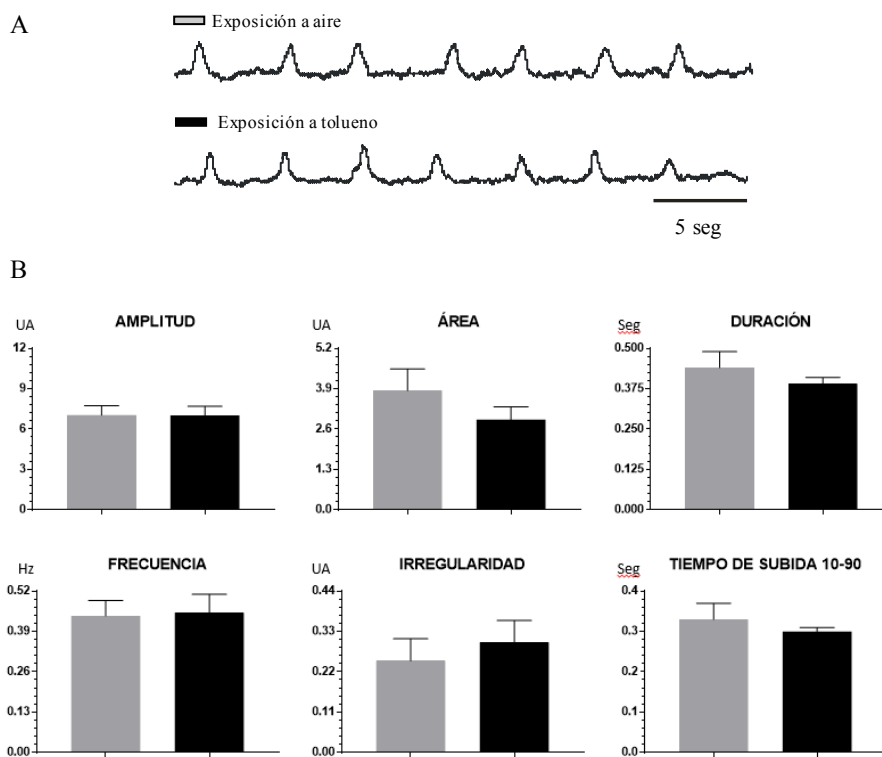
La evaluación de los boqueos ficticios *in vitro* en condiciones de hipoxia muestra que la actividad eléctrica generadora de los esfuerzos respiratorios tiene una amplitud promedio de  $9.66 \pm 1.26$  UA en los animales control y que dicha amplitud no fue alterada significativamente en los animales tratados con tolueno ( $7.64 \pm 0.98$  UA; Tabla 3; Fig. 10). La ventilación, medida como el área promedio de la actividad eléctrica generadora de los esfuerzos respiratorios, fue de  $4.18 \pm 0.89$  UA/seg en los animales control y dicha ventilación no fue alterada significativamente en los animales tratados con tolueno ( $3.08 \pm 1.04$  UA/seg; Tabla 3; Fig. 10). La duración promedio de la actividad eléctrica generadora de los esfuerzos respiratorios fue de  $0.38 \pm 0.04$  seg en los animales control y no fue alterada significativamente en los animales tratados con tolueno ( $0.44 \pm 0.04$  seg; Tabla 3; Fig. 10). La frecuencia de los boqueos ficticios fue de  $0.25 \pm 0.09$  Hz en los animales control y no fue alterada significativamente en los animales tratados con tolueno ( $0.33 \pm 0.03$  Hz; Tabla 3; Fig. 10). El índice de irregularidad de los boqueos ficticios fue de  $0.20 \pm 0.05$  UA en los animales control y no fue alterado significativamente en los animales tratados con tolueno ( $0.35 \pm 0.08$ ; Tabla 3; Fig. 10). Finalmente, el inicio de la actividad eléctrica generadora del esfuerzo respiratorio, medido como el tiempo de subida del 10 al 90 % de la amplitud máxima, fue de  $0.27 \pm 0.02$  seg en los animales control y no fue alterado significativamente en los animales tratados con tolueno ( $0.30 \pm 0.03$  seg; Tabla 3; Fig. 10).



**Figura 14. La exposición a tolueno in útero no modifica la generación de boqueos ficticios en condiciones de normoxia *in vitro*.** **A)** Se ilustran trazos obtenidos mediante registro electrofisiológico, representativos de los boqueos ficticios del preBötC, provenientes de rebanadas de tallo cerebral obtenidas de ratones neonatos expuestos a aire (trazo superior) y a tolueno (trazo inferior) *in útero*, bajo condiciones de hipoxia. **B)** Se muestran las cuantificaciones (media  $\pm$  error estándar) de los parámetros analizados tanto del ritmo respiratorio ficticio (Frecuencia e Irregularidad), como del patrón del mismo (Duración, Área, Amplitud y Tiempo de subida), representativas de los boqueos ficticios del preBötC, provenientes de rebanadas de tallo cerebral obtenidas de ratones neonatos expuestos a aire (barras grises) y a tolueno (barras negras) *in útero*, bajo condiciones de hipoxia. Nótese que no se hallaron diferencias significativas entre los grupos para ninguno de los parámetros analizados.

La evaluación de la respiración ficticia *in vitro* en condiciones de reoxigenación muestra que la actividad eléctrica generadora de los esfuerzos respiratorios tiene una amplitud promedio de  $7.03 \pm 0.71$  UA en los animales control y que dicha amplitud no fue alterada significativamente en los animales tratados con tolueno ( $7.02 \pm 0.68$  UA; Tabla 3; Fig. 10). La ventilación, medida como el área promedio de la actividad eléctrica generadora de los esfuerzos respiratorios, fue de  $3.84 \pm 0.70$  UA/seg en los animales control y dicha ventilación no fue alterada significativamente en los animales tratados con tolueno ( $2.90 \pm 0.42$  UA/seg; Tabla 3; Fig. 10). La duración promedio de la actividad eléctrica generadora de los esfuerzos respiratorios fue de  $0.44 \pm 0.05$  seg en los animales control y no fue alterada significativamente en los animales tratados con tolueno ( $0.39 \pm 0.02$  seg; Tabla 3;

Fig. 10). La frecuencia de las ráfagas respiratorias fue de  $0.44 \pm 0.05$  Hz en los animales control y no fue alterada significativamente en los animales tratados con tolueno ( $0.45 \pm 0.06$  Hz; Tabla 3; Fig. 10). El índice de irregularidad de las ráfagas respiratorias fue de  $0.25 \pm 0.06$  en los animales control y no fue alterado significativamente en los animales tratados con tolueno ( $0.30 \pm 0.06$ ; Tabla 3; Fig. 10). Finalmente el inicio de la actividad eléctrica generadora del esfuerzo respiratorio, medido como el tiempo de subida del 10 al 90 % de la amplitud máxima, fue de  $0.33 \pm 0.04$  seg en los animales control y no fue alterado significativamente en los animales tratados con tolueno ( $0.30 \pm 0.01$  seg; Tabla 3; Fig. 10).



**Figura 15. La exposición a tolueno *in útero* no modifica la respiración ficticia en condiciones de reoxigenación *in vitro*.** **A)** Se ilustran trazos obtenidos mediante registro electrofisiológico, representativos de la actividad respiratoria ficticia del preBötC, proveniente de rebanadas de tallo cerebral obtenidas de ratones neonatos expuestos a aire (trazo superior) y a tolueno (trazo inferior) *in útero*, bajo condiciones de reoxigenación. **B)** Se muestran las cuantificaciones (media  $\pm$  error estándar) de los parámetros analizados tanto del ritmo respiratorio ficticio (Frecuencia e Irregularidad), como del patrón del mismo (Duración, Área, Amplitud y Tiempo de subida), representativas de la actividad respiratoria ficticia del preBötC, proveniente de rebanadas de tallo cerebral obtenidas de ratones neonatos expuestos a aire (barras grises) y a tolueno (barras negras) *in útero*, bajo condiciones de reoxigenación. Nótese que no se hallaron diferencias significativas entre los grupos para ninguno de los parámetros analizados.

## 6. DISCUSIÓN

Como se mencionó previamente, la exposición prenatal a sustancias contenidas en el humo del cigarro produce alteraciones en el comportamiento tanto de humanos como de roedores neonatos (Fríguls et al., 2009); así como malformaciones craneofaciales (Fríguls et al., 2009), alteraciones cardíacas (Slotkin, 1998; Nattie et al., 2002; Hafström et al., 2005) y respiratorias (Hanrahan et al., 1992; Hooet al., 1998; Dezateux et al., 1999; Sandberg et al., 2011; Gilliland et al., 2001; Dezateux et al., 2001;Tepper et al., 2005), reducción en el crecimiento (Meyer et al., 1972; Anderson, 1984; Kramer, 1990), deterioro en las capacidades cognitivas (Eskenazi et al., 1999;Ortega et al., 2006), del habla (Ortega et al., 2006) y alteraciones motrices (Manning et al., 1976; Harding, 1997). El tolueno, utilizado comúnmente como solvente (Budavari et al., 1996) no es la excepción, pues su aplicación perinatal provoca deterioro cognitivo (Jones et al., 1998; Kodituwakku, 2007), ansiedad (LaDou, 1993), retardos en el desarrollo (Bowen et al., 2006), deterioro motor (Kostas et al., 1981), alteraciones del comportamiento (Jones et al., 1997), malformaciones anatómicas (Bowen et al., 2009; Roberts et al., 2003), reducción de la mielinización neuronal (Gospe et al., 1998), disminución del aprendizaje (Hougaard et al., 1999), apea del sueño (De Haro et al., 1992), deformidades craneofaciales (Pearson et al., 1994; Jones et al., 1998), disminución neuronal (Gospe et al.,1998) y cambios en los mecanismos de neurotransmisión GABAérgica (Williams et al., 2005), dopaminérgica (Riegel et al., 2007; Lo et al., 2009), serotoninérgica (Castilla-Serna et al., 1993; Calderón-Guzmán et al., 2005a; Calderón-Guzmán et al., 2005b) y noradrenérgica (Rea et al., 1984) que podrían afectar la generación de la actividad respiratoria (Holtman et al.,1988; Hoop et al., 1988) y los mecanismos que intervienen en la respuesta respiratoria a la hipoxia (Srinivasan et al., 1989; Goiny et al., 1991). De manera que, siendo el tolueno uno de los componentes del humo del cigarro (Liu et al., 2010), resultó de importancia indagar si, de manera específica, la exposición gestacional a este inhalable ejerce algún efecto sobre la respiración. Por tanto, el propósito principal de esta investigación fue caracterizar los efectos de la exposición a tolueno *in útero* sobre la respiración de ratones neonatos y así analizar si dicha exposición produce cambios en los ritmos respiratorios de ratones Swiss Webster hembra neonatos sometidos a diferentes condiciones de oxigenación.

Los resultados obtenidos muestran que el tolueno ejerce efectos moderados sobre los ritmos respiratorios ya que, de la gran diversidad de parámetros evaluados tanto *in vivo* como *in vitro*, únicamente tres mostraron cambios significativos en el grupo de animales expuestos intrauterinamente a tolueno (la amplitud, la duración y el área de los boqueos). Además, estos



cambios sólo se presentaron en los registros realizados *in vivo*, lo que podemos atribuir a que el proceso respiratorio es una actividad motora compleja que involucra diferentes circuitos neuronales y el control de varios músculos (Hilaire et al., 2003), y que la acumulación de pequeñas alteraciones en varios de estos elementos permitieron observar un efecto *in vivo*. Dado que no observamos efectos de la exposición a tolueno en el generador del ritmo respiratorio, cuando se le registró directamente en la rebanada de tallo cerebral, no podemos descartar que los pequeños efectos provocados por esta exposición involucren alteraciones directas en el control de los músculos respiratorios o en dichos músculos directamente. De hecho, se ha demostrado que el tolueno produce alteraciones morfológicas en diversos órganos más allá del sistema nervioso (Bowen et al., 2009), incluyendo cambios esqueléticos (Roberts et al., 2003) de sujetos neonatos que durante el periodo prenatal fueron expuestos a sus efectos tóxicos. Así que, de haber sido afectado algún músculo u órgano relacionado con el proceso respiratorio, el efecto se vería reflejado únicamente en registros *in vivo* y no en registros de la actividad del generador del ritmo respiratorio, como fue el caso.

El proceso respiratorio requiere también de la actividad de varios grupos neuronales, distribuidos a diferentes niveles del SNC (Hilaire et al., 2003). Particularmente, en el grupo respiratorio ventral (Connelly et al., 1989; Holtman et al., 1990), el dorsal (Schaffar et al., 1988; Jiang, 1990) y los núcleos motores frénicos (Holtman et al., 1984; Zhan et al., 1989), así como de la influencia de diversos neuromoduladores como la 5-HT (Peña-Ortega, 2013). De hecho, se ha reportado que basta con la alteración de estos sistemas neuromoduladores para que se observen alteraciones en la función respiratoria (Peña et al., 2006; Peña-Ortega, 2013). En este sentido, se ha encontrado que la actividad serotoninérgica es afectada por la exposición a tolueno (Rea et al., 1984) y que la 5-HT ejerce una profunda influencia en el ritmo respiratorio y su estabilidad (Pilowsky et al., 1990; Richter et al., 2003). De hecho, se ha propuesto que una alteración en la modulación serotoninérgica produce desórdenes respiratorios, incluyendo el SIDS (Hilaire et al., 2010). Ya que en la presente investigación no se indagaron los efectos que la exposición a tolueno *in útero* tiene sobre los diferentes grupos neuronales relacionados con la respiración (más allá del preBötC), ni tampoco los efectos anatómicos, se propone para futuras investigaciones averiguar si dichas variaciones ocurren.

Resulta relevante que las diferencias en el ritmo respiratorio de los ratones neonatos expuestos a tolueno *in útero* fueron observadas únicamente durante la fase de hipoxia. Es decir, que mientras se mantuvo a los neonatos en un ambiente con oxigenación normal; ambos grupos,

tanto los expuestos *in útero* a tolueno, como aquellos que sólo se expusieron a aire; desarrollaron una respiración idéntica y que sólo cuando fueron sometidos a un periodo de hipoxia, los animales tratados con tolueno, presentaron una respuesta de boqueo distinta, siendo éstos de mayor amplitud, duración y área. El hecho de que las diferencias hayan sido observadas particularmente durante la fase de hipoxia puede ser atribuido a que la exposición a tolueno tiene efectos sobre la actividad dopaminérgica (Riegel et al., 2007; Lo et al., 2009), y que este neurotransmisor influye sobre la respuesta respiratoria a la hipoxia (Srinivasan et al., 1989; Goiny et al., 1991). Asimismo, la exposición por inhalación a tolueno produce un aumento significativo en las concentraciones de noradrenalina (NE) en la médula y el mesencéfalo de rata (Rea et al., 1984) y las neuronas noradrenérgicas también participan en la respuesta al estrés respiratorio inducido por la hipoxia (Budzinska et al, 1985). Por tanto, investigar los efectos específicos que tiene la exposición a tolueno *in útero* sobre la actividad dopaminérgica y noradrenérgica, en relación a la respiración, representa un tema importante para investigaciones futuras.

El aumento en la amplitud, duración y área de los boqueos sugiere un mecanismo que facilita la autoresucitación de los sujetos expuestos a tolueno *in útero*, pues al someter a los ratones neonatos a reoxigenación, el total de ellos presentó recuperación de la actividad respiratoria sin mostrar diferencias entre los grupos. Es decir, que la exposición a tolueno *in útero* no hace a los sujetos más susceptibles a la muerte por enfrentarse a periodos de hipoxia, ni representa un agente que disminuya la capacidad de autoresucitación de los neonatos. Por tanto, podemos sugerir que la exposición intrauterina a tolueno no aumentaría la probabilidad de ocurrencia del Síndrome de muerte súbita del lactante. De hecho, aun no se ha documentado algún caso que reporte mayor susceptibilidad a la muerte por SIDS en hijos de madres inhaladoras de tolueno, contrariamente a la gran cantidad de casos documentados sobre mayor susceptibilidad a la muerte por SIDS en hijos de madres expuestas al humo de cigarro y particularmente a la nicotina (St. John et al., 1993; Kahn et al., 1994; Lewis et al., 1995; Slotkin, 1998; Fewell et al., 1998, 2000; Nattie et al., 2002; Hafström et al., 2005; Eugenín et al., 2008; Campos et al., 2009)

En relación a los registros *in vitro*, no se observaron diferencias significativas en ninguno de los parámetros evaluados durante los registros electrofisiológicos llevados a cabo en rebanadas de tallo cerebral que contenían al generador del ritmo respiratorio (preBötC), a pesar incluso de que la exposición a tolueno por inhalación afecta la actividad noradrenérgica y ésta se ha relacionado con la maduración del preBötC (Budzinska et al, 1985). Esta ausencia de diferencias resulta de sumo interés, sobre todo si consideramos la enorme cantidad de efectos que el tolueno produce tanto a

nivel cognitivo (LaDou, 1993) como conductual (Jones et al., 1997), e incluso estructural (Kodituwakku, 2007; Bowen et al., 2009) en los organismos; pues la exposición tanto aguda como crónica a dicho solvente puede causar malformaciones cerebrales a nivel cortical y disminución neuronal (Gospe et al., 1998), modificaciones en el tamaño de los órganos del aparato digestivo (Bowen et al., 2009), inclusive malformaciones en el esqueleto (Roberts et al., 2003). Sin embargo, los resultados obtenidos sugieren que el tolueno no ejerce ningún efecto sobre una estructura muy específica hallada en el tallo cerebral como es el Complejo Pre-Bötzinger. Podemos sugerir que la razón por la que dicha estructura presenta tal resistencia a los efectos devastadores de la exposición a tolueno *in útero*, es la importancia vital del proceso respiratorio en organismos aerobios y particularmente en mamíferos como los roedores y los humanos. Estos resultados contrastan con los efectos de la exposición intrauterina a nicotina sobre el funcionamiento del preBötC. El sustento neuroquímico de esta diferencia puede encontrarse en la importancia neurotrófica de la acetilcolina (ACh) y la facilidad con que la nicotina llega al feto a través de la placenta y al neonato a través de la leche materna, pudiendo activar así receptores colinérgicos nicotínicos detectados desde etapas tempranas del desarrollo del tubo neural (Slotkin, 1998), mismos que están ampliamente involucrados en el control de la actividad respiratoria (Wessler et al., 1987; Haxhiu et al., 1986; Barillot et al., 1990).

Adicionalmente a lo reportado en la sección de Resultados y dado que no se encontraron diferencias entre los ritmos respiratorios ficticios en los dos grupos experimentales de esta tesis (aire y tolueno), decidimos probar si había diferencias entre los registros de estos grupos y el registro de los ritmos respiratorios ficticios de rebanadas obtenidas de animales sin ningún tipo de tratamiento. Resultó muy interesante descubrir que hubo diferencias no sólo entre los registros del grupo sin tratamiento alguno y los del grupo expuesto a tolueno, sino también entre los registros del primero y los del grupo expuesto a aire (Datos no mostrados). De manera que, no sólo la exposición a tolueno *in útero*, sino la sola permanencia de las hembras gestantes en la cámara de exposición, produce un efecto sobre la generación de la respiración de los neonatos y, aunque las causas de este hallazgo no fueron analizadas como parte de este proyecto, proponemos que las diferencias se deben a que la permanencia de las hembras preñadas en la cámara de exposición les produce ansiedad y estrés (Datos no mostrados). De hecho, se ha comprobado que un entorno novedoso y la luz brillante son factores que activan respuestas neuroendócrinas características del estrés en roedores (Chandramohan, Droste y Reul, 2007; Fendt y Endres, 2008). Ambas características se encuentran presentes en la cámara de exposición y, aunque se permitió a las

hembras gestantes aclimatarse a este ambiente, no se puede descartar por completo que hayan producido estrés en ellas y que éste tuviera posteriormente un efecto sobre los ritmos respiratorios de los neonatos, pues se ha comprobado que el estrés durante la gestación produce muchas alteraciones en la madre (Bowen et al., 2013; Soberanes-Chávez, López-Rubalcava, De Gortari y Cruz, 2013). Asimismo, tanto el estrés como la ansiedad materna prenatal promueven la liberación de corticosterona en la madre (Damianopoulos y Carey, 1995; Stanulis, Matulka, Jordan, Rosecrans y Holsapple, 1997), hormona que en concentraciones elevadas durante la gestación, altera el control respiratorio de los neonatos e incrementa la necesidad de medidas de resucitación al nacer (Ponirakis, Susman y Stifter, 1998). Además, el estrés interfiere en el desarrollo y funcionamiento de las neuronas serotoninérgicas (Vázquez, López, Van Hoers, Watson y Levine, 2000; Papaioannou, Dafni, Alikaridis, Bolaris y Stylianopoulou, 2002), neurotransmisor que como ya mencionamos anteriormente, tiene efectos sobre la respiración. También se ha comprobado que el estrés materno, en combinación con la exposición gestacional a tolueno produce un decremento en la ganancia de peso de los neonatos aun cuando el cuidado materno y la conducta alimenticia de las crías no presenta diferencias en relación a grupos control (Soberanes-Chávez et al., 2013). Por tanto, es posible que los efectos de la sola permanencia de las hembras en la cámara de exposición enmascaren los efectos que el tolueno produce en la generación de la respiración en los neonatos.

Cabe mencionar que esta investigación se llevó a cabo únicamente en ratones neonatos hembra debido a que se ha observado que los neonatos machos presentan más periodos de apnea en respuesta al estrés materno gestacional (Fournier, Steele, Julien, Fournier, Gulemetova, Caravagna, Soliz, Bairam y Kinkead, 2013), así como mayor propensión al fallo en la recuperación de la actividad respiratoria posterior a un periodo de hipoxia (García, Rotem-Kohavi, Doi, Ramirez, 2013).

De igual manera, se ha comprobado mayor incidencia de SIDS en varones que en mujeres (L'Hoir et al., 1998; Mage et al., 2004; 2006; 2009; Richardson et al., 2010). Por tanto, deseábamos probar si la exposición a tolueno *in útero* afectaba los ritmos respiratorios independientemente de la susceptibilidad inherente al sexo de los sujetos. Ya que el efecto de la exposición a tolueno *in útero* sobre los ritmos respiratorios de ratones neonatos hembra fue tan moderado, resulta de interés indagar, en futuras investigaciones, si los efectos son más robustos sobre los ritmos respiratorios de ratones neonatos macho.

La discusión de nuestros resultados nos lleva a rechazar nuestra primera hipótesis y aceptar la segunda, pues la exposición a tolueno *in útero* tiene efectos moderados sobre la respuesta a la

hipoxia únicamente durante la actividad registrada *in vivo*, mientras que no afecta al generador del ritmo respiratorio *in vitro*. De manera que podemos sugerir que la exposición de mujeres gestantes a sustancias que contienen este hidrocarburo, ya sea laboralmente o con fines de intoxicación, no haría a sus hijos más propensos a sufrir el Síndrome de muerte súbita del lactante.

## 7. CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos demuestran que la exposición a tolueno *in útero* provoca un cambio moderado en la respuesta a la hipoxia de los ratones neonatos expuestos prenatalmente a este hidrocarburo, con respecto a la de ratones que sólo se expusieron a aire.

La falta de correspondencia entre los resultados obtenidos en los registros *in vivo* con aquellos obtenidos *in vitro* nos permite sugerir que las diferencias observadas no son producto de un efecto del tolueno directo sobre el generador del ritmo respiratorio (preBötC), por lo cual, se sugiere para investigaciones posteriores, indagar si existe un efecto del tolueno en otras estructuras respiratorias, o bien un efecto periférico de la exposición a tolueno *in útero* al que puedan atribuirse las diferencias observadas.

El método para exponer a las hembras gestantes a tolueno representa en sí mismo un factor que altera la actividad respiratoria y la respuesta a la hipoxia de los neonatos, por tanto se propone para futuras investigaciones, probar otro método de exposición a tolueno que anule interferencias de factores distintos al propio tolueno.

## 8. ABREVIATURAS

5-HT	Serotonina
5-HTP	5-hidroxitriptófano
AAP	Academia Americana de Pediatría
CaCl <sub>2</sub>	Cloruro de Calcio
Cinvestav	Centro de Investigación y de Estudios Avanzados
CO <sub>2</sub>	Dióxido de Carbono
CPB	Complejo Pre-Bötzinger
DA	Dopamina
ENA	Encuesta Nacional de Adicciones
FSS	<i>Fetal Solvent Syndrome</i>
GA	Grupo expuesto prenatalmente a Aire
GABA	Ácido Gamma-Aminobutírico
GRD	Grupo Respiratorio Dorsal
GRPF	Grupo Respiratorio Parafacial
GRV	Grupo Respiratorio Ventral
GRVc	Grupo Respiratorio Ventro-caudal
GRVr	Grupo Respiratorio Ventro-rostral
GT	Grupo Expuesto prenatalmente a Tolueno
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
INPRFM	Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz
KCl	Cloruro de Potasio
LCRa	Líquido Cefaloraquídeo Artificial
MgCl <sub>2</sub>	Cloruro de Magnesio
N <sub>2</sub>	Nitrógeno
NA	Núcleo Ambiguo
NaCl	Cloruro de Sodio
NaHCO <sub>3</sub>	Bicarbonato de Sodio
NE	Noradrenalina
NF	Núcleo Facial

NMDA	N-metil-D-aspartato
NRA	Núcleo Retroambiguo
NTS	Núcleo del Tracto Solitario
O <sub>2</sub>	Oxígeno
OI	Oliva Inferior
PreBötC	Complejo Pre-Bötzinger
SAF	Síndrome de Alcoholismo Fetal
SAS	Síndrome de Apnea del Sueño
SIDS	<i>Sudden Infant Death Syndrome</i> /Muerte Súbita del Lactante
SINAIS	Sistema Nacional de Información en Salud
SNC	Sistema Nervioso Central
SNV	Sistema Nervioso Vegetativo
SP5	Núcleo Espinal del Trigémino
SSA	Secretaría de Salud
X	Núcleo dorsal motor del Nervio Vago
XII	Núcleo del Nervio Hipogloso

## 9. REFERENCIAS

- Alarcon, C. (1984). Aspectos de la prevención, detección precoz y tratamiento de las drogodependencias por disolventes. *Comunicación a las XII JORNADAS de sociodrogalcohol*. Granada.
- American Academy of Pediatrics. (2000). Task force on infant sleep position and sudden infant death syndrom. Changing concepts of SIDS: implications for infant sleeping environment and sleep position. *Pediatrics*, 105, 650-656.
- American Academy of Pediatrics. (2011). Task Force on Sudden Infant Death Syndrome. SIDS and other sleep-related infant deaths: expansion of recommendations for a safe infant sleeping environment. *Pediatrics*, 128 (5), 1030-1039.
- Anderson, G. D., Blidner, I. N., McClemon, S. et al. (1984). Determinants of size at birth in a Canadian population. *American journal of obstetrics and gynecology*, 150, 236-44.
- Anderson, H. R. y Cook, D. G. (1997). Passive smoking and sudden infant death syndrome: review of the epidemiological evidence [published erratum appears in *Thorax* 1999 54, 365-366]. *Thorax*, 52, 1003-1009.
- Anderson, R. N. y Smith, B. L. (2003). Deaths: leading causes for 2001. *National Vital Statistics Reports*, 52, 1-85.
- Andres, R. L. y Day, M. C. (2000). Perinatal complications associated with maternal tobacco use. *Seminars in Neonatology*, 5, 231-41.
- Arlie-Søborg, P. y Simonsen, L. (2012). Agentes químicos neurotóxicos. *Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo*, cap. 7.9.
- Armijo, J. A. y Florez, J. (1974). The influence of increased brain 5-hydroxytryptamine upon the respiratory activity of cats. *Neuropharmacology*, 13, 977-986.
- Aydin K, Sencer S, Demir T, Ogel K, Tunaci A, Minareci O. (2002). Cranial MR findings in chronic toluene abuse by inhalation. *American Journal of Neuroradiology* 23, 173–1179.
- Barillot, J. C., Grelot, L., Reddad, S. y Bianchi, A. L. (1990). Discharge patterns of laryngeal motoneurons in the cat: an intracellular study. *Brain Research*, 509, 99-106.
- Baskerville J. R., Tichenor G. A. y Rosen P. B. (2001). Toluene induced hypokalaemia: case report and literature review. *Emergency Medicine Journal*, 18 (6), 514-516.
- Beal, S. M. y Finch, C. F. (1991). An overview of retrospective case-control studies investigating the relationship between prone sleeping position and SIDS. *Journal of Pediatrics and Child Health*, 27, 334-339.



- Beauvais, F. y Oetting, E. R. (1988). Indian youth and inhalants: an update. In: Crider RA, Rouse BA (eds). *Epidemiology of Inhalant Use: an Update*. National Institute of Drug Abuse: Rockville.
- Bergman, A. B., Beckwith, J. B. y Ray, C. C. (1970). Sudden infant death syndrome. Proceeding of the second International Conference on Causes of Sudden Death Infants. Seattle, University of Washington Press.
- Bianchi, A. L., Denavi-Saubié, M. y Champagnat, J. (1995). Central control of breathing in mammals: neuronal circuitry, membrane properties, and neurotransmitters. *Physiological Reviews*, 75, 1-45.
- Blair, P. S., Nadin, P., Cole, T. J., Smith, I. J., Platt, M. W. et al. (2000). Weight gain and sudden infant death syndrome: changes in weight z scores may identify infants at increased risk. *Archives of Disease in Childhood*, 82, 462-469.
- Bohmer, G., Dinse, H. R. O., Fallert, M. y Sommer, T. J. (1979). Microelectrophoretic application of antagonist of putative neurotransmitters onto various types of bulbar respiratory neurons. *Archives Italiennes de Biologie*, 117, 13-22.
- Bohmer, G., Schimid, K. y Schauer, W. (1991). Evidence for an involvement of NMDA and non-NMDA receptors in a synaptic excitation of phrenic motoneurons in the rabbit. *Neuroscience Letters*, 130, 271-274.
- Bolla-Wilson, K., Wilson R. J. y Bleecker, M. L. (1988). Conditioning of physical symptoms after neurotoxic exposure. *Journal of Occupational Medicine*, 30 (9), 684-686.
- Bouyer, J., Coste, J., Fernandez, H., et al. (1998). Tobacco and ectopic pregnancy. Arguments in favor of a causal relation. *Revue d'Epidemiologie et de Sante Publique*, 46 (2), 93-99.
- Bowen, S. E., Batis, J. C., Paez- Martínez, N y Cruz, S. L. (2006). The last decade of solvent research in animal models of abuse: mechanistic and behavioral studies. Review. *Neurotoxicology and Teratology*, 28 (6), 636-647.
- Bowen, S. E., Irtenkauf, S., Hannigan, J. H. y Stefanski, A. L. (2009). Alterations in Rat Fetal Morphology Following Abuse Patterns of Toluene Exposure *Reproductive Toxicology*, 27 (2), 161-169.
- Bowen S.E. (2011). Two serious and challenging medical complications associated with volatile substance misuse: sudden sniffing death and fetal solvent syndrome. *Substance Use Misuse*, 46 (Suppl 1), 68-72.
- Bowen, S. E. y Hannigan, J. H. (2013). Binge toluene exposure in pregnancy and pre-weaning developmental consequences in rats. *Neurotoxicology and Teratology*, 38, 29-35.

- Brooks, J. G. (1996). Apparent life-threatening events. *Pediatrics in Review*, 17, 257-259.
- Bubnaitiene, V., Kalediene, R. y Kevalas, R. (2005). Case-control study of sudden infant death syndrome in Lithuania, 1997-2000. *BMC Pediatrics*, 13, 5-41.
- Budavari, S., O'Neil, M. J., Smith, A., Heckelman, P. E. y kinneary, J. F. (1996). The merck Index, 12a edición. New Jersey: Whitehouse Station. Pp.1626.
- Budzinska, K., Von Euler, C., Kao, F. F., Pantaleo, T. y Yamamoto, Y. (1985). Effects of graded focal cold block in the solitary and para-ambigul regions of the medulla in the cat. *Acta Physiologica Scandinavica*, 124, 317-328.
- Bokowski, J. A. (2001). Review of epidemiological evidence relating toluene to reproductive outcomes. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 33, 147-156.
- Bureau, M. A., Zinman, R., Foulon, P. y Begin, R. (1984). Disphasic ventilator response to hypoxia in newborn lambs. *Journal of Applied Physiology*, 1, 84-90.
- Cairney, S., Maruff, P., Burns C. y currie, B. (2002). The neurobehavioural consequences of petrol (gasoline) sniffing. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 26, 81-89.
- Calderón-Guzmán, D., Espitia-Vázquez, I., López-Dominguez, A., Hernández-García, E., Huerta-Gertrudis, B., Coballase-Urrutia, E., Juárez-Olguín, H. y García-Fernández, B. (2005a). Effect of toluene and nutritional status on serotonin, lipid peroxidation levels and NA<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase in adult rat brain. *Neurochemical Research*, 30, 619-624.
- Calderón-Guzmán, D., Hernández-Islas, J. L., Espitia-Vázquez, I. R., Barragán-Mejía, G., Hernández-García, E., Del Angel, D. S. y Juárez-Olguín, H. (2005b). Effect of toluene and cresols on Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> ATPase, and serotonin in rat brain. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 41, 1-5.
- Cameron, p. (1967). The presence of pets and smoking as correlates of perceived disease. *Journal of Allergy*, 40, 12-15.
- Campos, M., Bravo, E. y Eugén, J. (2009). Respiratory dysfunctions induced by prenatal Nicotine exposure. *Clinical and experimental pharmacology and physiology*, 36, 1205-1217.
- Castilla-Serna, L., Barragán-Mejía, M. G., Rodríguez-Pérez, R. A., García-Rillo, A. y Reyes-Vázquez, C. (1993). Effects of acute and chronic toluene inhalation on behavior, monoamine metabolism and specific binding (3H-serotonin and 3H-norepinephrine) of rat brain. *Archives of Medical Research*, 24, 169-176.
- Chalmers, E. M. (1991). Volatile substance abuse. *Medical Journal of Australia*, 154, 269-274.
- Chandramohan, Y., Droste, S. K. y Reul, J. M. (2007). Novelty stress induces phospho-acetylation of histone H3 in rat dentate gyrus granule neurons through coincident signalling via the N-

- methyl-D-aspartate receptor and the glucocorticoid receptor: relevance for c-fos induction. *Journal of Neurochemistry*, *101*, 815-828.
- Cherniack, N. S., Von Euler, C., Glogowska, M. y Homma, I. (1981). Characteristics and rate of occurrence of spontaneous and provoked augmented breaths. *Acta Physiologica Scandinavica*, *111*, 349-360.
- Clinger D. W. y Johnson M. A. (1951). Purposeful inhalation of gasoline vapours. *Psychiatry Quarterly*, *25*, 555–561.
- Connelly, C. A., Ellenberger, H. H. y Fledman, J. L. (1989). Are there serotonergic projections from the raphe and retrotrapezoidnuclei to the ventral respiratory group in the rat? *Neuroscience Letters*, *105*, 34-40.
- Cook, D., Strachan, D. y Carey I. (1998). Health effects of passive smoking 9: parental smoking and spirometric indices in children. *Thorax*, *53*, 884-893.
- Coste, J., Job-Spira, N. y Fernández, H. (1991). Increased risk of ectopic pregnancy with maternal cigarette smoking. *American Journal of Public Health*, *81*, 199-201.
- Cruz S.L., Mirshahi T., Thomas B., Balster R.L. y Woodward J.J. (1998). Effects of the abused solvent toluene on recombinant N-methyl-D-aspartate and non-N-methyl-D-aspartate receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *286* (1), 334–340.
- Cruz S. L., Balster R. L. y Woodward, J. J. (2000). Effects of volatile solvents on recombinant N-methyl-D-aspartate receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *British Journal of Pharmacology*, *131*, 1303-1308.
- Cruz S. L. (2011). El abuso de inhalables: Problema creciente de salud pública. *Avance y perspectiva*, *3* (3).
- Damianopoulos, E. N. y Carey, R. J. (1995). Evidence for N-methyl-aspartate receptor mediation of cocaine induced corticosterone release and cocaine conditioned stimulant effects. *Behavioral Brain Research*, *68*, 219-228.
- De Haro, L., Jouglard, J., Jahjah, F., Sainty, J. M., Chave, B. y Cura, B. (1995). Psychosyndrome aux solvants et recherché du syndrome d'apnées du sommeil. *Archives des Maladies Professionnelles de Medecine du travail et de sécurité sociale*, *2*, 145-147.
- Denavit-Saubie, M., Champagnat, J. y Rondouin, G. (1980). Central effect of adrenergic compounds on cat respiratory mechanism. In: Central Adrenaline Neurons: BasicAspects and Their Role

- in Cardiovascular Functions, editado por Fuxe, K., Goldstein, M., Hockfelt, B. y Hockfelt, T. Oxford, UK: Pergamon, p. 277-287.
- Dezateux, C., Stocks, J., Dundas, I. et al. (1999). Impaired airway function and wheezing in infancy: the influence of maternal smoking and genetic predisposition to asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 159, 403-410.
- Dezateux, C., Stocks, J., Wade, A. M., Dundas, I. y Fletcher, M. E. (2001). Airway function at one year: association with premorbid airway function, wheezing, and maternal smoking. *Thorax*, 56, 680-686.
- DiFranza, J. R., Aligne, C. A. y Weitzman, M. (2004). Prenatal and Postnatal Environmental Tobacco Smoke Exposure and Children's Health. *Pediatrics*, 113, 1007.
- Drago, D. A. y Dannenberg, A. L. (1999). Infant mechanical suffocation deaths in the United States, 1980-1997. *Pediatrics*, 103, (5) URL: <http://www.pediatrics.org/cgi/content/full/103/5/e59>
- Duffin, J., Tian, G. F. y Prever, J. H. (2000). Functional synaptic connections among respiratory neurons. *Respiratory Physiology*, 122, 237-246.
- Dwyer, T., Ponsonby, A. L., Newman, N. M. y Gibbons, L. E. (1991). Prospective cohort study of prone sleeping position and sudden infant death syndrome. *Lancet*, 337, 1224-1227.
- Ehyai, A. y Freeman, F. R. (1983). Progressive optic neuropathy and sensorineural hearing loss due to chronic glue sniffing. *Journal of Neurology and Psychiatry* 46, 349-51.
- Einarson, A. y Riordan, S. (2009). Smoking in pregnancy and lactation: a review of risks and cessation strategies. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 65, 325-330.
- Engelberts, A. C. y De Jonge, G. A. (1990). Choice of sleeping position for infants: possible association with cot death. *Archives of Disease in Childhood*, 65, 462-467.
- Ernst, M., Moolchan, E. T. y Robinson, M. L. (2001). Behavioral and neural consequences of prenatal exposure to nicotine. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 40, 630-641.
- Eschobar A. y Aruffo C. (1980). Chronic thinner intoxication: clinicopathologic report of a human case. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 43, 986-994.
- Eskenazi, B. y Castorina, R. (1999). Association of prenatal maternal or postnatal child environmental tobacco smoke exposure and neurodevelopmental and behavioral problems in children. *Environmental Health Perspectives*, 107, 991-1000.
- Eugenín, J., Otárola, M., Bravo, E., Coddou, C., Cerpa, V., Reyes-Parada, M., Llona, I. y Von Bernhardt, R. (2008). Prenatal to early postnatal nicotine exposure impairs central chemoreception and

- modifies breathing pattern in mouse neonates: a probable link to sudden infant death syndrome. *Journal of Neuroscience*, 28 (51), 13907-13917.
- Fallert, M., Bohmer, G., Dinse, H. R. O., Sommer, T. J. y Bittner, A. (1979). Microelectrophoretic application of putative neurotransmitters onto various types of bulbar respiratory neurons. *Archives Italiennes de Biologie*, 117, 1-12.
- Faus, S. M. T., Soler, C. E., Pérez, C. I., Orosa, F. P. y Cuenca S. A., (1999). Taquicardia ventricular por inhalación accidental de tolueno utilizado como solvente en una laca insecticida. *Farmacia Hospitalaria*, 23, 73-76.
- Feldman, J., Connelly, C., Ellenberg, H. y Smith, J. (1990). The cardiorespiratory circuitry within the brainstem. *European Journal of Neuroscience (Suppl. 3)*, 171.
- Feldman, J., Mitchell, G. S. y Nattie, E. E. (2003). Breathing: rhythmicity, plasticity, chemosensitivity. *Annual Review of Neuroscience*, 26, 239-266.
- Fendt, M. y Endres, T. (2008). 2, 3, 5-Trimethyl-3-thiazoline (TMT), a component of fox odor-just repugnant or really fear-inducing? *Neuroscience and Biobehavioral Review*, 32, 1259-1266.
- Fewell, J. E., Smith, F. G. (1998). Perinatal nicotine exposure impairs ability of newborn rats to autoresuscitate from apnea during hypoxia. *Journal of Applied Physiology*, 85, 2066-2074.
- Fewell, J. E., Smith, F. G. y Ng, V. K. Y. (2000). Prenatal exposure to nicotine impairs protective responses of rat pups to hypoxia in an age-dependent manner. *Respiration Physiology*, 127, 61-73.
- Fewell, J. E. (2005). Protective responses of the newborn to hypoxia. *Respiratory Physiology and Neurobiology*, 149, 243-255.
- Filiano, J. J. y Kinney, H. C. (1994). A perspective on neuropathologic findings in victims of the sudden infant death syndrome: the triple-risk model. *Biology of the Neonate*, 65, 194-197.
- Fleming, P. J., Blair, P. S., Bacon, C., Bensley, D., Smith, I., Taylor, E. et al. (1996). Environment of infants during sleep and risk of the SIDS: results of 1993-5 case-control study for confidential inquiries into stillbirths and deaths in infancy. *British Medical Journal*, 313, 191-195.
- Flores-Huerta, Ramos-Hernández, Flores-Hernández, Villa-Contreras y Martínez-Salgado (2006). Síndrome de muerte súbita del lactante. Prevención en la práctica hospitalaria. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 44 (6), 511-518.
- Flores-Ramos, M. (2012). Uso de sustancias adictivas durante el embarazo. *Perinatología y Reproducción Humana*, 26 (3), 169-171.

- Florez, P. J., Delgado, G. y Armijo, J. A. (1972). Adrenergic and serotonergic mechanisms in morphine-induced respiratory depression. *Psychopharmacologia*, 24, 258-274.
- Forster, L. M., Tannhauser, M. y Barros, H. M. (1996). Drug use among street children in southern Brazil. *Drug and Alcohol Dependence*, 43, 57-62.
- Fournier, S., Steele, S., Julien, C., Fournier, S., Gulemetova, R., Caravagna, C., Soliz, J., Bairam, A. y Kinkead, R. (2013). Gestational Stress Promotes Pathological Apneas and Sex-Specific Disruption of Respiratory Control Development in Newborn Rat. *The Journal of Neuroscience*, 33 (2), 563-573.
- Fríguls, B., García-Algar, Ó., Puig, C., Figueroa, C., Sunyer, J. y Vall O. (2009). Perinatal Exposure to Tobacco and Respiratory and Allergy Symptoms in First Years of Life. *Archivos de Bronconeumología*, 45 (2), 585-590.
- Fuente A. y McPherson B. (2006). Organic solvents and hearing loss: The challenge for audiology. *International Journal of Audiology*, 45 (7), 367-381.
- García, A. J., Rotem-Kohavi, N., Doi, A. y Ramirez, J. M. (2013). Post-Hypoxic Recovery of Respiratory Rhythm Generation is Gender Dependent. *Plos One*, 8 (4), 1-10.
- Gilliland, F. D., Li, Y. F. y Peters, J. M. (2001). Effects of maternal smoking during pregnancy and environmental tobacco smoke on asthma and wheezing in children. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 163, 429-436.
- Goiny, M., Lagercrantz, H., Srinivasan, M., Ungerstedt, U. y Yamamoto, Y. (1991). Hypoxia-mediated in vivo release of dopamine in nucleus tractus solitarii of rabbits. *Journal of Applied Physiology*, 70, 2395-2400.
- González Marín, M. C. (2008). Neuromodulación del circuito generador del ritmo respiratorio en normoxia e hipoxia in vitro. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Gospe, Jr. S. M., Zhou, S. S. y Pinkerton, K. E. (1996). Effects of environmental tobacco smoke exposure in utero and/or postnatally on brain development. *Pediatric Research*, 39, 494-498.
- Gospe, S. M. Jr. y Zhou, S. S. (1998). Toluene abuse embryopathy: longitudinal neurodevelopmental effects of prenatal exposure to toluene in rats. *Reproductive toxicology*, 12, 119-26.
- Gospe, S. M. Jr, Joyce, J. A., Siebert, J. R., Jack, R. M. y Pinkerton, K. E. (2009). Exposure to environmental tobacco smoke during pregnancy in rats yields less effect on indices of brain cell number and size than does postnatal exposure. *Reproductive toxicology*, 27, 22-27.

- Gozal, D., Gozal, E., Reeves, S. R. y Lipton, A. J. (2002). Gasping and autoresuscitation in the developing rat: effect of antecedent intermittent hypoxia. *Journal of Applied Physiology*, *92*, 1141-1144.
- Grélot, L., Iscoe, S. y Blanche, A. L. (1988). Effects of amino acids on the excitability of respiratory bulbospinal neurons in solitary and para-ambigular regions of medulla in the cat. *Brain Research*, *89*, 140-145.
- Guía para profesionales sobre el abuso de sustancias volátiles. (n.d.). extraído el 27 de junio de 2011 desde [http://www.lwl.org/ks-download/downloads/searchII/Solvents-Guide\\_span.pdf](http://www.lwl.org/ks-download/downloads/searchII/Solvents-Guide_span.pdf)
- Guthenroth, W. G. y Kawabori, I. (1975). Hypoxia apnea and gasping. *Journal of Clinical Investigation*, *56*, 1371- 1377.
- Hafström, O., Milerad, J., Sandberg, K. L. y Sundell, H. W. (2005). Cardiorespiratory effects of nicotine exposure during development. *Respiratory Physiology and Neurobiology*, *149*, 325-341.
- Hannigan J.H. y Bowen S.E. (2010). Reproductive toxicology and teratology of abused toluene. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, *56* (2), 184–200.
- Hanrahan, J. P., Tager, I. B., Segal, M. R., Tosteson, T. D., Castile, R. G., Van Vunakis, H. et al. (1992). The effect of maternal smoking during pregnancy on early infant lung function. *American Review of Respiratory Disease*, *145*, 1129-35.
- Harding, R. (1997). Fetal pulmonary development: the role of respiratory movements. *Equine veterinary journal. Supplemente*, *24*, 32-39.
- Harper, R. M., Leake, B. y Hoppenbrouwers, T. (1978). Polygraphics studies of normal infants at risk for the sudden infant death syndrome. *Pediatrics*, *12*, 778-785.
- Haxhiu, M. A., Deal E. C., Norcia, M. P., Van Lusteren, E., Mitra, J. y Cherniack, N. S. (1986). Medullary effects of nicotine and GABA on tracheal smooth muscle tone. *Respiratory Physiology*, *64*, 351-363.
- Hedner, J., Hedner, T., Wessberg, P. y Jonason, J. (1984). An analysis of the mechanism by which  $\gamma$ -aminobutyric acid depresses ventilation in the rat. *Journal of Applied Physiology*, *56*, 849-856.
- Hilaire, G. y Pásaro, R. (2003). Genesis and control of the respiratory rhythm in adult mammals. *News in Physiological Sciences*, *18*, 23-28.
- Hilaire, G., Voituron, N., Menuet, C., Ichiyama, R. M., Subramanian, H. H. y Dutschmann, M. (2010). The role of serotonin in respiratory function and dysfunction. *Respiratory Physiology and Neurobiology*, *174*, 76-88.

- Hodges, M. R. y Richerson G. B. (2008). Contributions of 5-HT neurons to respiratory control: neuromodulatory and trophic effects. *Respiratory Physiology and Neurobiology*, 164, 222-232.
- Holtman, J. R. Norman, W. P., Skirboll, L., Dretchenk, L., Cuello, C. y Visser, T. (1984). Evidence for 5-hydroxytryptamine, substance P and thyrotropin-releasing hormone in neurons innervating the phrenic motor nucleus. *Journal of Neuroscience*, 4, 1064-1071.
- Holtman, J. R. Jr. (1988). Immunohistochemical localization of serotonin- and substance P-containing fibers around respiratory muscle motoneurons in the nucleus ambiguus of the cat. *Neuroscience*, 26, 169-178.
- Holtman, J. R. Jr., Marion, L. J. y Speck, D. F. (1990). Origin of serotonin-containing projections to the ventral respiratory group in the rat. *Neuroscience*, 37, 541-552.
- Hoo, A. F., Henschen, M., Dezateux, C., et al. (1998). Respiratory function among preterm infants whose mothers smoked during pregnancy. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 158, 700-705.
- Hoop, B., Systrom, D. M., Shih, V. E. y Kazemi, H. (1988). Central respiratory effects of glutamine synthesis inhibition in dogs. *Journal of Applied Physiology*, 65, 1099-1109.
- Hoppenbrouwers, T., Calub, M., Arakawa, K., Hodgman, J. E. (1981). Seasonal relationship of sudden infant death syndrome and environmental pollutants. *American Journal of Epidemiology*, 113, 623-635.
- Horsley T, Clifford T, Barrowman N, et al. (2007). Benefits and harms associated with the practice of bed sharing: a systematic review. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, 161, 237-245.
- Houck, P., Nebel, D. y Milham, S. (1992). Organic solvent encephalopathy: an old hazard revisited. *American Journal of Industrial Medicine*, 22, 109-115.
- Hougaard, K. S., Hass, U., Lund, S. P. y Simonsen, L. (1999). Effects of prenatal exposure to toluene on postnatal developmental and behavior in rats. *Neurotoxicology and Teratology*, 21, 241-250.
- Hunt, C., (1998). Policy statement. SIDS Global Strategy Task Force. Physiology Working Group. Expanded back to sleep recommendations. Hospital-based safe sleeping practices. New Recommendations.
- INEGI (2004). Estadísticas de natalidad. Nacimientos registrados, 1990-2003. México: INEGI; 2004.



- Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz” (INPRFM, 2012). Instituto Nacional de Salud Pública; Secretaría de Salud. Encuesta Nacional de Adicciones 2011: Reporte de Drogas. México: Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz” (INPRFM); 2012.
- Janczewski, W. A. y Feldman, J. L. (2006). Distinct rhythm generator for inspiration and expiration in the juvenile rat. *Journal of Physiology*, 570, 407-420.
- Jiang (1990). Serotonin immunoreactive boutons form close appositions with respiratory neurons of the dorsal respiratory group in the cat. *Journal of Comparative Neurology*, 295, 208-218.
- Johnston, L.D., O’Malley, P. M. y Bachman, J. G. (2003). Monitoring the Future National Survey Results on Drug Use, 1975-2002. Volume I: Secondary School Students (NIH Publication no. 03-5375). National Institute on Drug Abuse: Bethesda, MD.
- Jones, H, E. y Balster, R. L. (1997). Neurobehavioral consequences of intermittent prenatal exposure to high concentrations of toluene. *Neurotoxicology and Teratology*, 19, 305-313.
- Jones, H. E. y Balster R. L. (1998). Inhalant abuse in pregnancy. *Obstetrics and gynecology clinics of North America*, 25, 153-167.
- Juárez-Fuentes, C. A. (2008) Especialidad para el Tratamiento de las Adicciones 4ª Generación 2007–2008. reporte de investigación final para concluir el programa académico de la especialidad para el tratamiento de las adicciones. Tema: "Conocimientos y actitudes de Médicos Familiares y Generales sobre tabaquismo"
- Kahn, A., Groswasser, J., Scottiaux, M., Kelmanson, I., Rebuffat, E., Franco, P., Dramaix, M. y Wayenberg, J. L. (1994). Prenatal exposure to cigarettes in infants with obstructive sleep apneas. *Pediatrics*, 93, 778-783.
- Kallen, K. (2000). Maternal smoking during pregnancy an infant head circumference at birth. *Early Human Development*, 58, 197-204.
- Kandall, S. R., Gaines, J., Habel, L., Davidson, G. y Jessop, D. (1993). Relationship of maternal substance abuse to subsequent SIDS in offspring. *Journal of Pediatrics*, 123, 120-126.
- Kemp, J. S., Livne, M., White, D. K y Arfken, C. L. (1998). Softness and potential to cause rebreathing: Differences in bedding used by infants at high and low risk for sudden infant death syndrome. *Journal of Pediatrics*, 132, 234-239.
- Kinney, H. C. y Tach, B. T. (2009). The sudden infant death syndrome. *New England Journal of Medicine*, 361, 795-805.

- Kirkwood, P. A., Schmid, K., Otto, M. y Sears, T. A. (1991). Focal blockade of single unit synaptic transmission by iontophoresis of antagonists. *Neuroreport*, 2, 185-188.
- Kirsten, E. B., Satayavivad, J., St. John, W. M. y Wang, S. C. (1978). Alteration of medullary respiratory unit discharge by iontophoretic application of putative neurotransmitters. *British Journal of Pharmacology*, 63, 275-281.
- Klonoff-Cohen, H. S. y Edelstein, S. L. (2002). Prenatal and intrapartum events and SIDS. *Pediatric and Perinatology Epidemiology*, 16, 82-89.
- Knöbel, H., Chen, C. J. y Liang, K. Y. (1995). SIDS in relation to weather and optometrically measured air pollution in Taiwan. *Pediatrics*, 96, 1106-1110.
- Knobel, H. H., Yang, H. S. y Chen, C. J. (1996). Risk factors of sudden infant death in Chinese babies. *American Journal of Epidemiology*, 144, 1070-1073.
- Kodituwakku, P. W. (2007). Defining the behavioral phenotype in children with fetal alcohol spectrum disorders: a review. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 31, 192-201.
- Kohlendorfer, U., Haberlandt, E., Kiechel, S y Sperl, W. (1997). Pre- and postnatal medical care and risk of SIDS. *Acta Pædiatrica*, 86, 600-603.
- Kostas, J. y Hotchkin, J. (1981). Behavioral effects of low-level perinatal exposure to toluene in mice. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology*, 3, 467-469.
- Kramer, M. S., Olivier, M., McLean, F. H., Dougherty, G. R., Willis, D. M. y Usher R. H. (1990). Determinants of fetal growth and body proportionality. *Pediatrics*, 86, 18-26.
- L'Hoir, M. P., Engelberts, A. C., Van Well, G. T. J., Westers, P., Mellenberg, G. H., Wolters, W. H. G. y Huber, J. (1998). Case-control study of current validity of previous described risk factors for SIDS in the Netherlands. *Archives of Disease in Childhood*, 79, 386-393.
- LaDou, J. (1993). Medicina laboral, Manual Moderno, México, pp. 343-351 y 469-480.
- Laire, G., Viaene, M. K., Veulemans, H., Masschelein, R. y Nemery, B. (1997). Nocturnal desaturations, as assessed by home-oxymetry, in long-term solvent exposed workers. *American Journal of Industrial Health*, 32, 656-664.
- Lambert, G. A., Friedman, E., Buchweitz, E. y Gershon, S. (1978). Involvement of 5-hydroxytryptamine in the central control of respiration, blood pressure and heart rate in the anaesthetized rat. *Neuropharmacology*, 17, 807-813.
- Lazar, R. B., Ho, S. U., Melen, O. y Daghestani, A. N. (1983). Multifocal central nervous system damage caused by toluene abuse. *Neurology*, 33, 1337-1340.

- Leach, C. E. A., Blair, P. S., Fleming, P. J., Smith, I. J., Platt, M. W., Berry, P. J., et al. (1999). Epidemiology of SIDS and Explained Sudden Infant Deaths. *Pediatrics*, 104 (4), URL: <http://www.pediatrics.org/cgi/content/full/104/4/e43>
- Leistner, H. L., Haddad, G. G. y Epstein, R. A. (1980). Heart rate and herath variability during sleep in aborted sudden infant death syndrome. *Journal of Pediatrics*, 97, 1-55.
- Lewis, K. W. y Bosque, E. M. (1995). Deficient hypoxic awakening response in infants of smoking mothers: possible relationship to sudden infant death syndrome. *Journal of Pediatrics*, 127, 691-699.
- Li, D. K. (1993). Maternal prior pregnancy loss and the sex ratio among infants with SIDS. *Epidemiology*, 4, 549-554.
- Lieske, S. P., Thoby-Brisson, M. y Ramirez, J. M. (2001). Reconfiguration of the central respiratory network under normoxic and hypoxic conditions. *Anvances in Experimental Medicine and Biology*, 499, 171-178.
- Lieske, S. P., Thoby-Brisson, M., Telgkamp, P. y Ramirez, J. M. (2000). Reconfiguration of the neural network controlling multiple breathing patterns: eupnea, sighs and gasp. *Nature Neuroscience*, 3, 600-607.
- Lipfert, F. W., Zhang, J. y Wyzga, R. E. (2000). Infant mortality and air pollution: a comprehensive analysis of U. S. data for 1990. *Journal of the Air and Waste Management Association*, 50, 1350-1366.
- Liu, C., Feng, S., van Heemst, J. y McAdam, K. G. (2010). New insights into the formation of volatile compounds in mainstream cigarette smoke. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 396, (5), 1817-1830.
- Lo, P. S., Wu, C. Y., Sue, H. Z. y Chen, H. H. (2009). Acute neurobehavioral effects of toluene: involvement of dopamine and NMDA receptors. *Toxicology*, 265, 34-40.
- Lubman, D. I., Yücel, M. y Lawrence, A. J. (2008). Inhalant abuse among dolescents: neurobiological considerations. *British journal of pharmacology*, 154, 316-326.
- Lundberg, D. B. A., Mueller, R. A. y Breese, G. R. (1980). An evaluation of the mechanism by which serotonergic activation depresses respiration. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 212, 397-404.
- Mage, D. T y Donner E. M. (2004). The fifty percent male excess of infant respiratory mortality. *Acta Paediatrica*, 93, 1210-1215.

- Mage, D. T. y Donner, M. (2006). Female resistance to hypoxia: does it explain the sex difference in mortality rates? *Journal of Women's Health, 15*, 786-794.
- Mage, D. T. y Donner, M. (2009). A Unifying Theory for SIDS. *International Journal of Pediatrics, 368270*.
- Manning, F. A. y Feyerabend, C. (1976). Cigarette smoking and fetal breathing movements. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology, 83*, 262-70.
- Martínez-Alcázar, Matías-Martínez, Rodríguez-Suárez (2006). Muerte súbita del lactante. Qué hacemos y qué debemos hacer para prevenirla. *Acta Pediátrica de México, 27 (5)*, 253-258.
- Martinez-Campos R. (2007). Detección oportuna de factores de riesgo del embarazo en la consulta externa del Hospital Escuela U.V. *Revista médica de la universidad veracruzana. 7, (1)*.
- Mathews, T. J., Menacker, F. y MacDorman, M. F. (2002). Infant mortality statistics from the 2000 period linked birth/infant death data set. *National Vital Statistics Report, 50*, 1-28.
- Mccrimmon, D. R. y Lalley, P. M. (1982). Inhibition of respiratory neural discharges by clonidine and 5-hydroxytryptophan. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 222*, 771-777.
- McCrimmon, D. R., Ramirez, J. M., Alford, S. y Zuperku, E. J. (2000). Unraveling the Mechanism for Respiratory Rhythm Generation. *BioEssays, 22*, 6-9.
- Meyer, M. B y Comstock, G. W. (1972). Maternal cigarette smoking and perinatal mortality. *American Journal of Epidemiology, 96*, 1-10.
- Millhord, D. E., Eldridge, F. L., Waldrop, T. G. y Klingler, L. E. (1983). Centrally and peripherally administered 5-HTP have opposite effects on respiration. *Brain Research, 264*, 349-354.
- Mitchell, E. A., Scrag, L. y Clements, M. (1996). Soft cot mattresses and the SIDS. *New Zealand Medical Journal, 109*, 260-207.
- Mitchell, E. A., Tuohy, P. G., Brun, J. M., Thompson, J. M. D., Clements, M. S., Stewart et al. (1997). Risk factors for SIDS following the prevention campaign in New Zealand: a prospective study. *Pediatrics, 100*, 835-840.
- Mitchell, E. A., Thompson, J. M., Ford, R. P y Taylor, B. J. (1998). Sheepskin bedding and the sudden infant death syndrome. New Zealand Cot Death Study Group. *Journal of Pediatrics, 133*, 1-4.
- Mitchell, E. A., Williams, S. M. y Taylor, B. J. (1999). Use of duvets and the risk of sudden infant death syndrome. *Archives of Disease in Childhood, 81*, 117-119.

- Mitchell, E. A. y Milerad, J. (2006). Smoking and the sudden infant death syndrome. *Reviews on Environmental Health, 21*, 81-103.
- Monstad, P., Mellgren, S. y Suig, I. (1992). The clinical significance of sleep apnoea in workers exposed to organic solvents: implications for the diagnosis of organic solvent encephalopathy. *Journal of Neurobiology, 239*, 195-198.
- Morata, T. C., Dunn, D. E., Kretschmer, L. W., Lemasters, G. K. y Keith, R. W. (1993). Effects of occupational exposure to organic solvents and noise on hearing. *Scandinavian Journal of Work Environment and Health, 19*, 245-254.
- Morin, D., Monteau, R. y Hilaire, G. (1991). 5-Hydroxytryptamine modulates central respiratory activity in the newborn rat: an in vitro study. *European Journal of Pharmacology, 192*, 89-95.
- Mueller, R. A., Lundberg, D. y Breese, G. R. (1980). Evidence the respiratory depression by serotonin agonists may be exerted in the central nervous system. *Pharmacology Biochemistry and Behavior, 13*, 247-255.
- Mueller, R. A., Lundberg, D. B. A., Breese, G. R., Hedner, J., Hedner, T. y Jonason, J. (1982). The neuropharmacology of respiratory control. *Pharmacology Reviews, 34*, 255-285.
- Nash, J. E. y Persaud, T. V. (1988). Embryopathic risks of cigarette smoking. *Experimental Pathology, 33* (2), 65-73.
- Nattie, E. y Kinney, H. (2002). Nicotine, serotonin, and sudden infant death syndrome. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 166*, 1530-1531.
- Netter, F. H. (2007). Atlas de Anatomía Humana. 4ta edición. Elsevier-Masson.
- Oetting, E. R., Edwards, R. W. y Beauvais, F. (1988). Social and Psychological Factors Underlying Inhalant Abuse. National Institute on Drug Abuse: Rockville, MD.
- Olson, E. B. Jr., Dempsey, J. A. y Mccrimmon, D. R. (1979). Serotonin and the control of ventilation in awake rats. *Journal of Clinical Investigation, 64*, 689-693.
- Onimaru, H., Arata, A. y Homma, I. (1988). Primary respiratory rhythm generator in the medulla of brainstem-spinal cord preparation from newborn rat. *Brain Research, 445*, 314-324.
- Onimaru, H. y Homma, I. (2003). A novel functional neuron group for respiratory rhythm generation in the ventral medulla. *Journal of Neuroscience, 23*, 1478-1486.
- Orem, J. y Trotter, R. H. (1993). Medullary respiratory neuronal activity during augmented breaths in intact inanesthetized cats. *Journal of Applied Physiology, 74*, 761-769.

- Ortega, G. J. A., Ferrís, T. J., Berbel, T. O., Romero, K. J., Rubalcava, L., Martínez, S. E., Apolinar, V. E., Crehuá, G. E. y Hernández, G. M. D. (2006). Neurotóxicos medioambientales (IV). Tabaco, alcohol, solventes, flúor y aditivos alimentarios: efectos adversos en el sistema nervioso fetal y posnatal y medidas preventivas Nutrición Infantil 35 en: *Acta Pediátrica Española*, 64, (10), 493-502.
- Oyen, N., Markestad, T., Skajaerven, R., Irgenes, L. M., Helweg-Larsen, K., Alm, B., et al. (1997). Combined effects of sleeping position and prenatal risk factors in SIDS: the Nordic epidemiological SIDS study. *Pediatrics*, 100, 613-621.
- Pagare, D., Meena, G. S., Singh, M. M. y Sahu, R. (2004). Risk factors of substance use among street children from Delhi. *Indian Pediatrics*, 41, 221-225.
- Papaioannou, A., Dafni, U., Alikaridis, F., Bolaris, S. y Stylianopoulou, F. (2002). Effects of neonatal handling on basal and stress-induced monoamine levels in the male and female rat brain. *Neuroscience*, 114, 195-206.
- Pearson, M., Hoyme, H., Seaver, L. y Rimsza, M. (1994). Toluene embryopathy: delineation of the phenotype and comparison with fetal alcohol syndrome. *Pediatrics*, 93, 211-215.
- Peña, F., Parkis, M. A., Tryba, A. K. y Ramirez, J. M. (2004). Differential contribution of pacemaker properties to the generation of respiratory rhythms during normoxia and hypoxia. *Neuron*, 43, 105-117.
- Peña, F. y Ramirez, J. M. (2005). Hypoxia-induces changes in neuronal network properties. *Molecular Neurobiology*, 32, 251-283.
- Peña, F. y García, O. (2006). Breathing generation and potencial pharmacotherapeutic approaches to central respiratory disorders. *Current Medicinal Chemistry*, 13, 2681-2693.
- Peña, F. y Aguilera, M. A. (2007). Effects of riluzole and flufenamic acid on eupnea and gasping of neonatal mice in vivo. *Neuroscience Letters*, 415, 288-293.
- Peña, F., Meza-Andrade, R., Páez-Zayas, V. y González-Marín, M. C. (2008). Gasping generation in developing Swiss-Webster mice in vitro and in vivo. *Neurochemistry Research*, 33, 1492-1500.
- Pérez, G. E., Hernández, R. M. C. y Marrero, G. A. R. (2003). Principales hipótesis y teorías patógenicas del SMSL. *Síndrome de la Muerte Súbita del Lactante (SMSL) Libro blanco 2ª edición*. GEMPSI, 258.
- Peterson, D. R., Vanbelle, G. y Chinn, N. M. (1982). SIDS and maternal age: etiologic implications. *Journal of the American Medical Association*, 247, 2250-2252.

- Pilowsky, P. M., De Castro, D., Llewellyn-Smith, I., Lipski, J. y Voss, M. D. (1990). Serotonin immunoreactive boutons make synapses with feline phrenic motoneurons. *Journal of Neuroscience*, *10*, 1091-1098.
- Poets, C. F., Meny, R. G., Chobanian, M. R. y Bonofiglio, R. E. (1999). Gasping and other cardiorespiratory patterns during sudden infant death. *Pediatric Research*, *45*, 350-354.
- Ponirakis, A. L., Susman, E. J. y Stifer, C. A. (1998). Negative emotionality and cortisol during adolescent pregnancy and its effects on infant health and autonomic nervous system reactivity. *Developmental Psychobiology*, *33*, 163-174.
- Ponsonby, A. L., Dwyer, T., Gibbons, L. E., Cochrane, J. A., Wang, Y. G. (1993). Factors potentiating the risk of SIDS associated with the prone sleeping position. *New England Journal of Medicine*, *329*, 377-382.
- Ponsonby, A. L., Dwyer, T., Kasl, S. V. y Cochrane, J. A. (1995). The Tasmanian SIDS case-control study: univariable and multivariable risk factors analysis. *Pediatric and Perinatology Epidemiology*, *9*, 256-272.
- Rama-Sastry, B.V., Chance, M. V., Hemontolor, M. E. y Goddijn-Wessel, T. A. W. (1998). Formation and retention of cotinine during placental transfer of nicotine in human placental cotyledon. *Pharmacology*, *57*, 104-116.
- Ramirez, J. M., Quellmalz, U. J. A. y Wilken, B. (1997). Developmental changes in the hypoxic response of the hypoglossus respiratory motor output in vitro. *Journal of Neurophysiology*, *78*, 383-392.
- Ramirez, J. M., Zuperku, E. J., Alheid, J. F., Lieske, S. P., Ptak, K. y McCrimmon, D. R. (2002). Respiratory rhythm generation: converging concepts from in vitro and in vivo approaches? Review. *Respiratory Physiology and Neurobiology*, *131* (2), 43-56.
- Ramsey, J., Anderson, H. R., Bloor, K. y Flanagan, R. J. (1989). An introduction to the practice, prevalence and chemical toxicology of volatile substance abuse. *Human toxicology* *8*, 261-269.
- Rea, T. M., Nash, J. F., Zabik, J. E., Born, G. S. y Kessler W. V. (1984). Effects of toluene inhalation on brain biogenic amines in the rat. *Toxicology*, *31* (2), 143-150.
- Rekling, J. C. y Feldman, J. L. (1998). PreBötzinger Complex and Pacemaker Neurons: Hypothesized Site and Kernel for Respiratory Rhythm Generation. *Annual Review of Physiology*, *60*, 385-405.

- Richardson, H. L., Walker, A. M. y Horne, R. S. (2010). Sleeping like a baby-does gender influence infant arousability? *Sleep*, 33, 1055-1060.
- Richter, D. W. y Spyer, K. M. (2001). Studying rhythmhogenesis of breathing: comparison of in vivo and in vitro models. *Trends in Neurosciences*, 24, 464-472.
- Richter, D. W., Manzke, T., Wilken, B. y Ponimaskin, E. (2003). Serotonin receptors: guardians of stable breathing. *Trends in Molecular Medicine* 9, 542-548.
- Riegel, A. C., Zapata, A., Shippenberg, T. S. y French, E. D. (2007). The abused inhalant toluene increases dopamine release in the nucleus accumbens by directly stimulating ventral tegmental area neurons. *Neuropsychopharmacology*, 32, 1558-1569.
- Roberts, L. G., Bevans, A. C. y Schreiner, C. A. (2003). Developmental and reproductive toxicity evaluation of toluene vapor in the rat, I. Reproductive toxicity. *Reproductive toxicology*, 17, 649-58.
- Rocca, R. M. (1997). Síndrome de muerte súbita infantil en Argentina: Resultado de los primeros años de estudio. *Anales españoles de Pediatría, Supl.* 92, 16-17.
- Rocca-Rivarola, M. (2003). Situación del síndrome de muerte súbita del lactante en Latinoamérica. En: Camarasa- Piquer F, editor. Síndrome de la muerte súbita del lactante (SMSL). Segunda edición. Madrid: GEMSI de la AEP; p. 21-33.
- Rodríguez, H., et al. (1999). Muerte postneonatal en domicilio y su accesibilidad a los servicios de salud. *Revista Médica del Uruguay*, 15, 221-229.
- Rosenberg, N.L., Kleinschmidt, B.K., Davis, K.A., Dreisbach, J.N., Hormes, J.T. y Filley, C.M. (1988). Toluene abuse causes diffuse central nervous system white matter changes. *Annals Neurology*, 23, 611-614.
- Sánchez Ruiz-Cabello, J. (2013). Prevención del síndrome de la muerte súbita del lactante. En Recomendaciones PrevInfad / PAPPs [en línea]. Actualizado agosto de 2013. [consultado DD-MM-AAAA]. Disponible en <http://www.aepap.org/previnfad/muertesubita.htm>
- Sandberg, K. L., Pinkerton, K. E., Poole, S. D., Minton, P. A y Sundell, H. W. (2011). Fetal nicotine exposure increases airway responsiveness and alters airway wall composition in young lambs. *Respiratory Physiology and Neurobiology*, 176, 57-67.
- Schaffar, N., Kessler, J. P., Bosler, O. y Jean, A. (1988). Central serotonergic projections to the nucleus tractus solitarius: evidence from a double labeling study in the rat. *Neuroscience*, 26, 951-958.



- Schmid, K., Bohmer, G. y Markelbach, S. (1990). Serotonergic control of phrenic motoneural activity at the level of the spinal cord of the rabbit. *Neuroscience Letters*, 116, 204-209.
- Schuen, J. N., Bamford, O. S. y Carroll, J. L. (1997). The cardiorespiratory response to anoxia: normal development and the effect of nicotine. *Respiratory Physiology*, 109, 231-239.
- Scragg, R. K., Mitchell, E. A., Stewart, A. W., Ford, R. P., Taylor, B. J., Hassall, I. B., et al. (1996). Infant room-sharing and prone sleep position in sudden infant death syndrome. New Zealand Cot Death Study Group. *Lancet*, 347, 7-12.
- Scragg, R. K., Mitchell, E. A. (1998). Side sleeping position and bed sharing in SIDS. *Annals of Medicine*, 30, 345-349.
- Secretaría de Salud (SSA, 2001). Programa de Acción: Adicciones. Tabaquismo. Primera Edición, México; 2001.
- Sharp, C. W. y Rosenberg, N. L. Inhalants, en: Lowinson, J. W. (Ed.), Substance abuses: A Comprehensive Textbook, Williams and Wilkins (1992). Baltimore, pp.246-264.
- Shen, L. y Duffin, J. (2002) caudal expiratory neurons in the rat. *Pflügers Archives-European Journal of Physiology*, 444, 405-410.
- Shepherd, R. T. (1989). Mechanism of sudden death associated with volatile substance abuse. *Human and Experimental Toxicology*, 8 (4), 287-291.
- Sistema Nacional de Información en Salud (SINAIS, 2004). Causas de Mortalidad 1998-2002, Dirección General de Información en Salud 2004, Secretaría de Salud México.
- Slotkin, T. A. (1998). Fetal nicotine or cocaine exposure: which one is worse? *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 285, 931-945.
- Smith, J. C., Ellenberger, H. H., Ballanyi, K., Richter, D. W. y Feldman, J. L. (1991). Pre-Bötzinger complex: a brainstem region that may generate respiratory rhythm in mammals. *Science*, 254, 126-129.
- Soberanes-Chávez, P., López-Rubalcava, C., De Gortari, P., Cruz, S. L. (2013). Exposure to toluene and stress during pregnancy impairs pups' growth and dams' lactation. *Neurotoxicology and Teratology*. Pp. 8.
- Spiers, P. S. y Guntheroth, W. G. (1999). The effect of the weekend on the risk of SIDS. *Pediatrics*, 104, URL <http://www.pediatrics.org/cgi/content/full/104/5/e58>.
- Sridhar, R., Thach, B. T., Kelly, D. H. y Henslee, J. A. (2003). Characterization of successful and failed autoresuscitation in human infants, including those dying of SIDS. *Pediatric Pulmonology*, 36, 113-122.

- Srinivasan, M., Lagercrantz, H. y Yamamoto, Y. (1989). A posible dopaminergic pathway mediating hypoxic depression in neonatal rabbits. *Journal of Applied Physiology*, 67, 1271-1276.
- St John, R. C., Gadek, J. E. y Pacht, E. R. (1993). Chronic obstructive pulmonary disease: less common causes, an algorithm for the primary care physician. *Journal of General Internal Medicine*, 8 (10), 564-572.
- Stanulis, E. D., Matulka, R. A., Jordan, S. D., Rosecrans, J. A. y Holsapple, M. P. (1997). Role of corticosterone in the enhancement of the antibody response after acute cocaine administration. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 280, 284-291.
- Stathis, S. L., O'Callaghan, M., Williams, G. M., Najman, J. M., Andersen, M. J. y Bor, W. (1999). Maternal cigarette smoking during pregnancy is an independent predictor for symptoms of middle ear disease at five years' postdelivery. *Pediatrics*, 104, 1-6.
- Stollery, B. T., Flindt, M. L. H. y Ffom, M. B. (1988). Memory sequelae of solvent intoxication . *Scandinavian Journal of Work Environmental Health*, 14, 45-48.
- Tapia, C. R. el consumo de drogas en México: Diagnóstico, tendencias y acciones. Extraído el 7 de julio de 2011 desde <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/documentos/CDM.htm>
- Tepper, R. S., Williams-Nkomo, T., Martinez, T., Kisling, J., Coates, C. y Daggy, J. (2005). Parental smoking and airway reactivity in healthy infants. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 171, 78-82.
- Thach, B. T. (1992). Control neuromuscular de la permeabilidad de las vías respiratorias superiores. *Clinics in Perinatology*, 4, 781-797.
- Toleikis, J. R., Wang, L. y Boyarsky, L. L. (1979). Effects of excitatory and inhibitory amino acids on phasic respiratory neurons. *Journal of Neuroscience Research*, 4, 225-235.
- Vázquez, D. M., López, J. F., Van Hoers, H., Watson, S. J. y Levine, S. (2000). Maternal deprivation regulates serotonin 1A and 2A receptors in the infant rat. *Brain Research*, 855, 76-82.
- Villatoro-Velázquez, J. A., Gutiérrez-López, M. L., Quiroz del Valle, N., Moreno-López, N., Gaytán-López, N., Gaytán-Flores, F. y cols. (2009). Encuesta de estudiantes de la Ciudad de México 2006. Pre- valencias y evolución del consumo de drogas. *Salud Mental*; 32.
- Wang, L., Boyarsky, L. L. y Frazier, D. T. (1982). The effect of transmitter antagonists on phasic respiratory neurons. *Journal of Neuroscience Research*, 8, 657-664.
- Weese-Mayer, D. E., Silvestri, J. M., Marazita, M. L y Hoo, J. J. (1993). Congenital central hypoventilation síndrome: inheritance and relation to SIDS. *American Journal of Medical Genetics*, 47, 360-367.

- White, V. (2001). Australian Secondary Students' Use Over-the-Counter and Illicit Substances in 1999 National Drug Strategy Monograph series no.46. Australian Government Department of Health and Aged Care, Canberra.
- White, V. y Hayman, J. (2004). Australian Secondary Students' Use of Overthe-Counter and Illicit Substances in 2002 National Drug Strategy Monograph series no.56. Australian Government Department of Health and Ageing, Canberra.
- Williams, J. M., Stanfford, D. y Steketee, J. D. (2005). Effects of repeated inhalation of toluene on ionotropic GABA A and glutamate receptor subunit levels in rat brain. *Neurochemistry International*, 46, 1-10.
- Xiong, L., Matthes, J.L. y Jinkins, J.R. (1992). MR Imaging of "spray heads": toluene abuse via aerosol paint inhalation. *American Journal of Neuroradiology*, 14, 1195–1199.
- Yamada, K. A., Hamosh, P. y Gillis, R. A. (1981). Respiratory depression produced by activation of GABA receptors in hindbrain of cat. *Journal of Applied Physiology*, 51, 1278-1286.
- Yamanouchi, N., Okada, S., Kodama, K. y et al. (1995). White matter changes caused by chronic solvent abuse. *American Journal of Neuroradiology*, 16, 1643–1649.
- Zhan, W. Z., Ellenberger, H. H. y Feldman, J. L. (1989). Monoaminergic and GABA-ergic terminations in phrenic nucleus of the rat identified by immunohistochemical labeling. *Neuroscience*, 31, 105-113.