



Doctoral Thesis

Effect of prenatal nicotine exposure on the development of nicotinic cholinergic binding sites in rat brain regions

Author(s):

Naeff-Odermatt, Brigitte

Publication Date:

1991

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000592900> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No. 9371

**Effect of Prenatal Nicotine Exposure on the
Development of Nicotinic Cholinergic Binding Sites
in Rat Brain Regions**

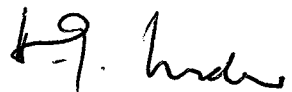
A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY
ZURICH

for the degree of
Doctor of Natural Sciences

presented by
Brigitte Naeff-Odermatt
eidg. dipl. Apothekerin
born June 3rd, 1959
citizen of Männedorf (ZH) and Dallenwil (NW)

accepted on the recommendation of
Prof. H.G. Weder, examiner
Prof. W. Lichtensteiger, co-examiner

1991



SUMMARY

Historically, brain nicotinic receptors have been studied biochemically using the binding of alpha-bungarotoxin (α -BTX) which is a potent ligand for the nAChR in muscle and electric organ of the *Torpedo*. Yet, central binding sites of α -BTX differ in their topographical distribution from these for ^3H -nicotine.

In the present study nicotinic cholinergic receptors in rat brain were investigated by quantitative autoradiography of ^3H -nicotine. (\pm)- ^3H -nicotine was used as tracer in a concentration of 10 nM.

First the ontogeny of nicotinic cholinergic binding sites in brain was studied. The first binding sites became detectable in spinal cord at GD 12. During development from late gestational to early postnatal stages, a shift of areas with high nicotinic receptor density from lower brainstem to forebrain was observed. At PN 27, a nearly adult distribution pattern was reached which did not further change until the old adult stage. Highest densities were observed in the interpeduncular nucleus, the medial habenula, the thalamus, in the superficial layer of the superior colliculus and in the dorsal nucleus of the lateral geniculate body. In contrast, the hippocampus, the hypothalamus and the locus coeruleus showed very low labelling. At PN 14, a developmental peak of receptor density was detected with about 2 to 3 fold higher densities than in adults. It may be interesting to also mention changes in labelling of different layers in neocortex. Until PN 14, highest densities of binding sites were observed in layer VI, later on, maximal density was found in layers III/IV and I. Functional relationships of this phenomenon are not known.

In adults and at PN 14 the characterization of ^3H -nicotine binding in caudate-putamen and neocortex sites revealed saturable binding with a K_d in the range of 12 to 20 nM and with B_{max} -values in these two areas, between 180 and 300 pmoles/ μg protein. The binding was totally displaceable with 10^{-4} M of (-)-nicotine.

The major part of this work was devoted to an investigation of the nAChR in offspring of nicotine-treated animals. Time-pregnant dams were implanted with an osmotic minipump containing either nicotine bitartrate or tartaric acid. The drug was continuously administered from GD 12 to 19 at a dose of 0.25 mg/kg/h. Plasma levels of about 140 ng/ml plasma resulted. The treatment did not affect the general development of the offspring. Nicotine treatment did not significantly affect the affinity of the ^3H -nicotine binding site for nicotine and decamethonium, as studied at PN 14 and in adult offspring. The effect of chronic prenatal nicotine treatment on the density of nicotinic receptor sites was studied in six brain regions (cortex layers III/IV and VI

(CX), caudate-putamen (CP), laterodorsal thalamus (TH), dorsolateral geniculate body (NGD), substantia nigra pars compacta (SNC) and the central grey of the pontine area (GCP) of male offspring at several stages of development (GD 21, PN 6, PN 14, PN 27, young adult (2.5 months) and old adult (20 months)). At GD 21, binding sites were highly increased in all investigated regions. As some nicotine was still detected in the blood of pregnant dams at this time, this type of change in receptor density can be considered to result from a direct action of the drug. During postnatal life, the consequences of prenatal nicotine exposure differed between brain regions. In neocortex, the density of ^3H -nicotine binding sites remained elevated until adulthood. In TH, NGD and GCP, binding sites reached control level at PN 6 with no further changes. In SNC and CP, receptor density dropped to beneath control level in adult and old adult offspring. Changes in nicotinic receptor sites can be expected to affect, i.a., central catecholaminergic systems which bear such receptors and have previously been found to be influenced by prenatal nicotine exposure.

The delayed postnatal changes in receptor density did not exceed 15% difference to control levels, which may seem relatively little for receptor systems. However nicotinic binding sites in brain are sparse, and if they were located to subsets of neurons in the various areas, even such a small difference could have physiological or pharmacological consequences.

ZUSAMMENFASSUNG

Lange Zeit wurde zur Charakterisierung der nikotinisch cholinergen Rezeptoren (nAChR) im Gehirn alpha-Bungarotoxin (α -BTX) verwendet, ein in peripheren Organen spezifisch bindender Ligand. Neuere Arbeiten zeigten aber, dass sich das Verteilungsmuster von ^{125}I - α -BTX deutlich von dem des ^3H -Nikotin unterscheidet.

In der vorliegenden Arbeit wurden die nAChR im Gehirn mittels quantitativer Autoradiographie untersucht. (\pm)- ^3H -Nikotin wurde in einer Konzentration von 10 nM verwendet.

Zuerst wurde die prä- (GD) und postnatale (PN) Entwicklung in verschiedenen Regionen des Gehirns untersucht. Erste Bindungsstellen erscheinen im Fötus am 12. Schwangerschaftstag im Rückenmark. Während der Entwicklung von spät fötal zu früh postnatal wurde eine Verschiebung der Regionen mit hoher Rezeptordichte vom unteren Hirnstamm ins Vorderhirn beobachtet. Vom postnatalen Tag (PN) 27 an erfuhr das Verteilungsmuster bis ins hohe Alter keine grössere Änderung mehr. Im adulten Gehirn wurden die höchste Rezeptordichte im Nucleus interpeduncularis, in der medialen Habenula, in verschiedenen Thalamus Kernen, in den oberflächlichen Schichten des Colliculus superior und im dorsalen Kern des Nucleus geniculatus lateralis gefunden. Im Gegensatz dazu war der Hippocampus, der Hypothalamus und der Locus coeruleus nur schwach mit Rezeptoren besetzt.

Zwischen der späten Fötalperiode und PN 14 wurde ein Entwicklungsschub mit einem Anstieg auf 2 - 3 x höhere Dichte beobachtet. Ein zweiter interessanter Punkt war die Verschiebung höchster Rezeptordichte im Neocortex von Schicht VI (bis PN 14) nach den Schichten III/IV und I (PN 14 bis adult). Ein funktioneller Zusammenhang für dieses Phänomen konnte bis jetzt nicht gefunden werden.

Scatchard Analysen wurden an PN 14 und in adultem Alter durchgeführt. ^3H -Nikotin zeigte eine Bindungsaffinität (K_d) im Bereich von 12 bis 20 nM und eine maximale Bindungsdichte (B_{max}) von 180 bis 300 pmol/ μg Protein für Neocortex und Caudatus putamen. Die Bindung von ^3H -Nikotin war total verdrängbar mit 10^{-4} M (-)-Nikotin.

Der Hauptteil dieser Arbeit war der Untersuchung des nAChR in Nachkommen von Nikotin-behandelten Müttern gewidmet. Weibchen mit zeitlich genau festgelegtem Schwangerschaftsbeginn wurde am 12. Schwangerschaftstag eine osmotische Minipumpe implantiert, welche entweder Nikotinbitartrat oder Weinsäure enthielt. Die Substanz wurde kontinuierlich abgegeben mit einer Dosis von 0.25 mg/kg/Std.. Dadurch wurden Plasmaspiegel von 140 ng/ml erreicht. Die Behandlung hatte keinen

signifikanten Effekt auf die allgemeine Entwicklung der Nachkommen. Die Affinität der ^3H -Nikotin-Bindung für Nikotin und Decamethonium (untersucht am PN 14 und adulten Neocortex und Caudatus putamen) war unverändert.

Der Effekt von chronisch verabreichtem Nikotin auf die Rezeptordichte wurde in 6 Hirnregionen untersucht (Neocortex (CX) Schichten III/IV und VI, Caudatus putamen (CP), Thalamus laterodorsalis (TH), Nucleus geniculatus dorsalis (NGD), Substantia nigra pars compacta (SNC) und das Griseum centrale pontis (GCP) in männlichen Nachkommen unterschiedlichen Alters (GD 21, PN 6, PN 14, PN 27, jung adult (2.5 Monate) und alt adult (20 Monate)). Am 21. Schwangerschaftstag waren in allen untersuchten Hirnregionen die Bindungsstellen stark vermehrt. Da zu diesem Zeitpunkt immer noch Nikotin im Plasma nachgewiesen werden konnte, kann ein direkter Einfluss der Substanz nicht ausgeschlossen werden. Postnatal zeigten die verschiedenen Regionen unterschiedliche Entwicklungsverläufe. Im Neocortex blieb die Rezeptordichte signifikant erhöht bis ins adulte Alter. Im TH, NGD und GCP erreichte die Dichte am PN 6 wieder Kontrollwerte ohne weitere Änderung. In der SNC (jung adult) und im CP (alt adult) fiel die Rezeptordichte signifikant unter die Kontrollwerte.

Frühere Arbeiten zeigten einen Einfluss von pränatal verabreichtem Nikotin auf das catecholaminerge System, welches nikotinisch-cholinerge Bindungsstellen besitzt. Eine zahlen- oder affinitätsmäßige Veränderung dieser Bindungsstellen könnten somit auch das catecholaminerge System beeinflussen.

Die postnatalen Veränderungen waren nicht grösser als 15%, was für Rezeptorsysteme relativ wenig ist. Die Rezeptordichte von nikotinischen Bindungsstellen im Gehirn ist gering; wenn die Veränderungen auf eine bestimmte Gruppe von Nerven oder Axonen konzentriert sind, könnten auch kleine Unterschiede physiologische oder pharmakologische Effekte auslösen.