



TESIS DE DOCTORADO

**EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN
PRENATAL A TABACO,
PSICOFÁRMACOS Y NUEVAS
SUSTANCIAS PSICOACTIVAS (NPS)
MEDIANTE EL ANÁLISIS DE MECONIO**

Ángela López Rabuñal

ESCUELA DE DOCTORADO INTERNACIONAL DE LA UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

PROGRAMA DE DOCTORADO EN AVANCES Y NUEVAS ESTRATEGIAS EN CIENCIAS FORENSES

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2021



AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR / TUTOR DE LA TESIS

Evaluación de la exposición prenatal a tabaco, psicofármacos y nuevas sustancias psicoactivas (NPS) mediante el análisis de meconio

D.^a Angelines Cruz Landeira

D.^a Ana de Castro Ríos

INFORMAN:

Que la presente tesis, se corresponde con el trabajo realizado por D.^a **Ángela López Rabuñal**, bajo mi dirección, y autorizo su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como director de esta no incurre en las causas de abstención establecidas en la Ley 40/2015.

De acuerdo con lo indicado en el Reglamento de Estudios de Doctorado, declara también que la presente tesis doctoral es idónea para ser defendida en base a la modalidad de **COMPENDIO DE PUBLICACIONES**, en los que la participación del doctorando/a fue decisiva para su elaboración y las publicaciones se ajustan al Plan de Investigación.

En Santiago de Compostela, 14 de mayo de 2021

Fdo. Angelines Cruz Landeira

Fdo. Ana de Castro Ríos





DECLARACIÓN DEL AUTOR DE LA TESIS

Evaluación de la exposición prenatal a tabaco, psicofármacos y nuevas sustancias psicoactivas (NPS) mediante el análisis de meconio

D.^a Ángela López Rabuñal

Presento mi tesis, siguiendo el procedimiento adecuado al Reglamento, y declaro que:

- 1) La tesis abarca los resultados de la elaboración de mi trabajo.*
- 2) En su caso, en la tesis se hace referencia a las colaboraciones que tuvo este trabajo.*
- 3) La tesis es la versión definitiva presentada para su defensa y coincide con la versión enviada en formato electrónico.*
- 4) Confirmando que la tesis no incurre en ningún tipo de plagio de otros autores ni de trabajos presentados por mí para la obtención de otros títulos.*

En Santiago de Compostela, a 14 de mayo de 2021

Fdo. Ángela López Rabuñal



CONFLICTO DE INTERESES

La alumna declara no tener ningún conflicto de interés en relación con la Tesis Doctoral.

ATRIBUCIÓN DE IMÁGENES

Todas las figuras y gráficos presentes en esta Tesis Doctoral fueron elaborados por la estudiante de doctorado, excepto las Figuras 1 y 4 (Sección de Introducción), las cuales presentan Licencia Creative Commons y se encuentran referenciadas en el pie de página correspondiente.



AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mis directoras de Tesis, las profesoras Ana de Castro y Angelines Cruz, por su apoyo y dedicación durante estos cinco años. Gracias Ana por enseñarme todo lo que sabes sobre el trabajo en un laboratorio de Toxicología. Gracias Geli por tus consejos y por tus correcciones que siempre mejoraban mis textos. Agradecer también al profesor Manuel López-Rivadulla, por darme la oportunidad de formar parte de este fantástico laboratorio, y a Elena Lendoiro, por toda la ayuda brindada.

Al resto de compañeros del laboratorio, Pablo, Salva, José Ángel y María, por su ayuda y apoyo en todo momento y por los momentos de risas y relax a la hora del café. Sin olvidarme de Lucía, quien más que una compañera es una amiga para toda la vida, por nuestros cotilleos, charlas y conciertos en el “Son do Camiño”.

A la Consellería de Educación, Universidade e Formación Profesional de la Xunta de Galicia por concederme un contrato predoctoral.

Al personal de los Complejos Hospitalarios Universitarios de Santiago de Compostela y de Vigo, en especial a Patricia Peñas Silva, Manuel Macía Cortiñas, Eva González Colmenero y Ana Concheiro Guisán. Quienes se encargaron de recoger todas las muestras y datos clínicos sin los que esta Tesis no sería posible. También agradecer a Marta Concheiro Guisán por toda la ayuda prestada en la corrección de los artículos que forman parte de esta Tesis Doctoral.

Grazie allo staff dell'Area Chimica dal Centro Regionale Antidoping “Alessandro Bertinaria” di Torino per avermi dato l'opportunità di imparare da loro. Grazie a Alberto Salomone e Daniele Di Corcia per il suo supporto e aiuto in laboratorio. Grazie a Eleonora e Lia, le mie colleghe dell' "ufficio”, per avermi accolto nel laboratorio. Grazie anche al resto del personale del laboratorio (Enrico, Clemente, Fabrizio, Tonia e Pamela).

A mis compañeros de la facultad de Farmacia (Laura, Antía, Sara, Chema, Giselle y Aida), por permanecer en contacto a pesar de la distancia y alegrarnos de las buenas noticias de los

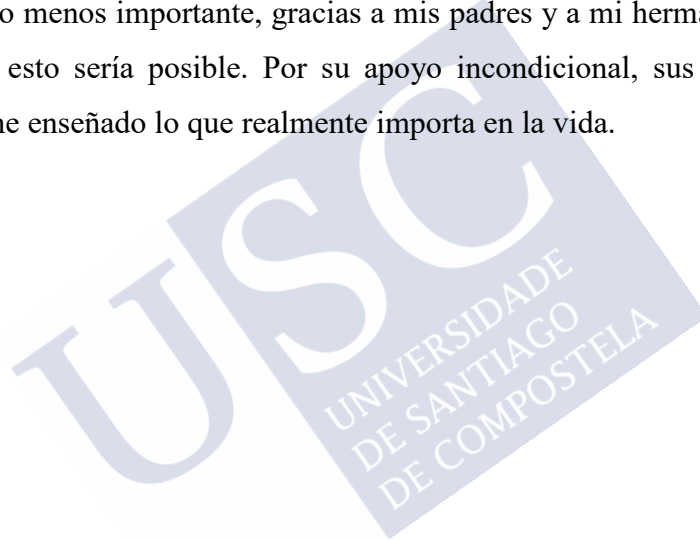
demás y apoyarnos en los malos momentos. Por nuestras cenas navideñas y nuestro reciente club de lectura.

A Paz y Carmen, hace tiempo que más que amigas sois familia. A María, por estar siempre pendiente de cómo me iba con la Tesis y los artículos. Y también a Alberto, por su amistad y nuestras charlas de baloncesto.

A Juan, por aguantar mis preocupaciones y mi mal humor y por escuchar todo lo que tengo que decir (que a veces es demasiado). En definitiva, por estar siempre ahí.

A toda mi familia, por ser un apoyo constante. Especial mención a mi prima Martita, por sus correcciones y ayuda con los términos médicos de esta Tesis.

Por último, pero no menos importante, gracias a mis padres y a mi hermana Carolina, sin quienes nada de todo esto sería posible. Por su apoyo incondicional, sus ánimos en todo momento y por haberme enseñado lo que realmente importa en la vida.





A mi familia



ÍNDICE

ABREVIATURAS	1
RESUMEN	7
SUMMARY	9
1. INTRODUCCIÓN	13
1.1. Epidemiología del consumo de drogas en mujeres embarazadas o en edad fértil	13
1.1.1. Tabaco	15
1.1.2. Psicofármacos	16
1.1.3. Nuevas Sustancias Psicoactivas	17
1.2. Transferencia de sustancias de la madre al feto a través de la placenta	18
1.3. Efectos del uso de drogas y/o sustancias de abuso durante el embarazo	22
1.3.1. Efectos del tabaco	24
1.3.1.1. Efectos obstétricos del tabaco	25
1.3.1.2. Efectos del tabaco sobre el neonato	27
1.3.1.3. Efectos del tabaco en la niñez	28
1.3.2. Efectos de los psicofármacos	29
1.3.2.1. Antidepresivos	29
1.3.2.2. Benzodiacepinas	30
1.3.2.3. Síndrome de Abstinencia Neonatal	31

1.3.3. Efectos de las Nuevas Sustancias Psicoactivas	32
1.4. Metodología usada para la detección de la exposición prenatal a sustancias de abuso	33
1.4.1. Entrevista materna	33
1.4.2. Análisis de muestras biológicas	35
1.4.2.1. El meconio como “ <i>gold standard</i> ” en la detección de la exposición intraútero a drogas y sustancias de abuso	39
1.5. Bibliografía	42
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	61
2.1. Hipótesis	61
2.2. Objetivos	63
2.2.1. Objetivo General	63
2.2.2. Objetivos Específicos	63
3. HERRAMIENTAS METODOLÓGICAS EMPLEADAS.....	65
3.1. Materiales.....	66
3.2. Métodos.....	67
3.2.1. Tratamiento de la muestra.....	67
3.2.2. Análisis Instrumental	68
3.2.2.1. Desarrollo de la metodología analítica específica	68
3.2.2.2. Análisis de los casos reales	68
3.3. Bibliografía	69
4. TRABAJOS PUBLICADOS	71
4.1. Artículo 1: Assessment of Tobacco Exposure during Pregnancy by Meconium Analysis and Maternal Interview.....	73
4.2. Artículo 2: LC–MS-MS Method for the Determination of Antidepressants and Benzodiazepines in Meconium.....	75

4.3. Artículo 3: Meconium and maternal hair analysis vs. medical records to monitor antidepressants and benzodiazepines exposure during pregnancy	77
4.4. Artículo 4: A LC-MS/MS method for the determination of common synthetic cathinones in meconium	79
5. DISCUSIÓN	81
5.1. Estudio del meconio como muestra alternativa en la detección de la exposición prenatal a drogas y/o sustancias de abuso	81
5.1.1. Biomarcadores de drogas y psicofármacos en meconio.....	81
5.1.2. Tratamiento del meconio como muestra biológica: procesos de hidrólisis	85
5.1.3. Ventana de detección del meconio.....	87
5.2. Desarrollo de metodologías analíticas en meconio	89
5.2.1. Métodos analíticos para la detección del tabaco	89
5.2.2. Métodos analíticos para la detección de psicofármacos.....	93
5.2.3. Métodos analíticos para la detección de Nuevas Sustancias Psicoactivas	96
5.3. Utilidad del meconio para detectar la exposición intraútero a sustancias de abuso	97
5.3.1. Meconio vs. Entrevista materna	97
5.3.2. Meconio vs. Pelo materno	101
5.4. Efectos de la exposición a sustancias de abuso durante la gestación	102
5.5. Bibliografía.....	105
6. CONCLUSIONES / CONCLUSIONS.....	117
7. ANEXOS	119
Anexo 1. Material Suplementario Artículo 1	121
Anexo 2. Material Suplementario Artículo 2	123

Anexo 3. Material Suplementario Artículo 3.....	125
Anexo 4. Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia	127
Anexo 5. Comité de Bioética de la Universidad de Santiago de Compostela	131



ABREVIATURAS

A

ADS: Antidepresivos

AF: Ácido Fórmico

ANF: Anfetaminas

ASE: Extracción Acelerada con Disolventes

ATC: Antidepresivos Tricíclicos

B

BZD: Benzodiazepinas

C

CAB: Cannabinoides

CIR: Crecimiento Intrauterino Retardado

COC: Cocaína

COT: Cotinina

D

DAD: Detector de array de diodos

DPX: Extracción con Pipeta Desechable

E

EDADES: Encuestas sobre Alcohol y Otras Drogas en España

EIA: Enzimoimmunoanálisis

EIP: Enfermedad Inflamatoria Pélvica

ELISA: Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas

EMCDDA: European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction

EMIT: Ensayo Inmunológico Por Multiplicación Enzimática

EtG: Etilglucurónido

EtS: Etilsulfato

F

FAEEs: Ésteres etílicos de ácidos grasos (siglas en inglés)

FDA: Food and Drug Administration

FPIA: Inmunoensayo De Polarización Fluorescente

G

GC-MS: Cromatografía de Gases acoplada a espectrometría de masas

GC-NPD: Cromatografía de Gases acoplada a Detector de Nitrógeno-Fósforo

I

ISRN: Inhibidor Selectivo de la Recaptación de Noradrenalina

ISRS: Inhibidor Selectivo de la Recaptación de Serotonina

K

KOH: Hidróxido Potásico

L

LLE: Extracción Líquido-Líquido (siglas en inglés)

LC-DAD: Cromatografía líquida acoplada a detector de array de diodos

LC-MS: Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas

LC-MS/MS: Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem

LC-UV/VIS: Cromatografía líquida acoplada a detector ultravioleta/visible

LOD: Límite de Detección

LOQ: Límite de Cuantificación

M

MDPV: 3,4-Metilendioxi-*p*irovalerona

MeOH: Metanol

N

NIC: Nicotina

NorCOT: Norcotinina

NorNIC: Nornicotina

NPD: Detector de Nitrógeno-Fósforo

NPS: Nuevas Sustancias Psicoactivas (siglas en inglés)

NSDUH: National Survey on Drug Use and Health

O

OH-COT: Trans-3'-hidroxicotinina

OH-THC: 11-hidroxi- Δ^9 -tetrahidrocannabinol

OP: Opiáceos

P

PCP: Fenciclidina

R

RCIU: Retraso del Crecimiento Intrauterino

RIA: Radioinmunoensayo

RPM: Rotura Prematura de Membranas

RPMP: Rotura Prematura de Membranas Pretérmino

S

SALLE: Extracción Líquido-Líquido Asistida por Sales

SAN: Síndrome de Abstinencia Neonatal

SWGTOX: Scientific Working Group for Forensic Toxicology

SHRN: Síndrome Hipotónico del Recién Nacido

SMIS: Síndrome de Muerte Infantil Súbita

SNC: Sistema Nervioso Central

SPE: Extracción en Fase Sólida (siglas en inglés)

T

TDAH: Trastorno por Déficit de Atención e Hiperactividad

THC: Δ^9 -tetrahidrocannabinol

THCCOOH: 11-Nor-9-carboxi- Δ^9 -tetrahidrocannabinol

U

UGTs: Uridinadifosfato glucuroniltransferasas

UHPLC-MS/MS: Cromatografía Líquida de Ultra Alta Presión acoplada a espectrometría de masas en tándem

UNODC: United Nations Office on Drugs and Crime

V

VIH: Virus de Inmunodeficiencia Humana

3

3,4-MDPHP: 3,4-metilendioxi- α -pirrolidinohexiofenona

4

4-MEC: 4-metilcatinona

6

6-AM: 6-acetilmorfina

α

α -PHP: α -Pirrolidinohexiofenona

α -PVP: α -Pirrolidinopentiofenona



RESUMEN

El abuso de drogas puede ocurrir en cualquier etapa de la vida, pero aproximadamente la mitad de las mujeres que consumen estas sustancias se encuentran en edad fértil. La exposición a estas sustancias durante el embarazo puede dar lugar a complicaciones obstétricas, neonatales e incluso en etapas posteriores de la vida. Por tanto, es de gran importancia disponer de los métodos adecuados para la detección de la exposición intraútero a sustancias de abuso. La identificación de la exposición intraútero a estas sustancias mediante la entrevista materna suele subestimar el consumo debido al estigma social asociado al consumo de drogas durante el embarazo, así como al miedo a las consecuencias legales que este hecho puede acarrear. Por ello, es necesario disponer de metodologías analíticas que permitan la identificación objetiva de la exposición a estas drogas mediante su detección en muestras biológicas, siendo el meconio la muestra de elección, por su larga ventana de detección y por tratarse de un marcador directo de la exposición fetal, a diferencia del pelo materno.

Por tanto, el principal objetivo de esta Tesis Doctoral ha sido evaluar la utilidad del análisis del meconio como muestra biológica de referencia para la identificación de la exposición prenatal a drogas y/o sustancias de abuso, específicamente a tabaco, psicofármacos (antidepresivos y benzodiacepinas) y Nuevas Sustancias Psicoactivas (NPS).

Para ello se desarrollaron 3 metodologías analíticas sensibles y precisas basadas en el uso de la cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS), para el análisis de nicotina y sus principales metabolitos (cotinina y trans-3'-hidroxicotinina), fármacos antidepresivos y benzodiacepinas (incluye aquellos más usados en la práctica clínica en España, junto con sus principales metabolitos), y algunas de las NPS más consumidas (concretamente, 6 compuestos que se encuentran dentro del grupo de las catinonas sintéticas).

Una vez desarrollados y completamente validados, dichos métodos analíticos fueron aplicados al análisis de muestras de meconio procedentes de neonatos nacidos en el período 2012 - 2015 en el Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela y de Vigo.

Mediante el análisis de dichas muestras se evaluó la utilidad del meconio como matriz biológica para el estudio de la exposición fetal a tabaco y fármacos. Para ello se compararon los resultados obtenidos en el análisis de meconio con los observados en los indicadores más comúnmente usados para detectar la exposición intraútero a sustancias (entrevista materna y análisis de pelo materno).

El análisis de meconio presentó igual o mayor sensibilidad que la información aportada por la madre para la detección de la exposición intraútero, excepto para las benzodiazepinas. En cuanto a la comparativa con el pelo materno, a pesar de que su análisis resultó ser un método más sensible que el del meconio, se recomienda el análisis complementario de ambas muestras, ya que el meconio permitió detectar casos no identificados por el pelo y, además, proporciona información directa sobre la exposición fetal.

Finalmente, se evaluó la correlación entre los resultados en meconio y la posible afectación de los principales parámetros antropométricos (longitud, peso y perímetro craneal) y de la puntuación en el test de Apgar del neonato. No se encontraron diferencias significativas entre neonatos expuestos y no-expuestos para ninguno de los parámetros estudiados, excepto para el peso al nacer.

SUMMARY

Drug abuse can occur at any stage of life, but about half of the women who use these substances are on childbearing age. Exposure to these substances during pregnancy can lead to obstetric, neonatal, and even complications later in life. Therefore, it is of great importance to have the adequate tools for the detection of intrauterine exposure to substances of abuse. The identification of *in utero* exposure to these substances through maternal interview usually underestimates consumption due to the social stigma associated with drug use during pregnancy, as well as the fear of the legal consequences that this fact may cause. Thus, it becomes necessary to have analytical methodologies that allow the objective identification of exposure to these drugs through their detection in biological samples, being meconium the sample of choice, for its long detection window and because it is a direct marker of the fetal exposure, unlike maternal hair.

Therefore, the main objective of this Doctoral Thesis was to evaluate the usefulness of meconium analysis as the biological reference matrix for the identification of prenatal exposure to drugs and/or substances of abuse, specifically to tobacco, psychoactive drugs (antidepressants and benzodiazepines) and New Psychoactive Substances (NPS).

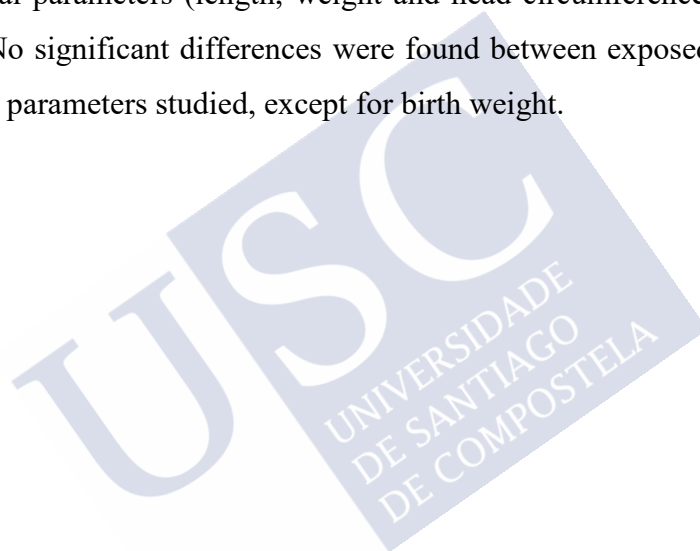
For that reason, three sensitive and specific analytical methodologies were developed using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for the analysis of nicotine and its two main metabolites (cotinine and trans-3'-hydroxycotinine), antidepressant drugs and benzodiazepines (including those most commonly used in the clinical practice in Spain, and their main metabolites), and some of the most consumed NPS (specifically, 6 compounds belonging to the group of synthetic cathinones).

Once developed and fully validated, these analytical methods were applied to the analysis of real meconium samples from neonates born at the University Hospitals of Santiago de Compostela and Vigo from 2012 to 2015. Usefulness of meconium as a biological matrix for the study of fetal exposure to tobacco and psychoactive drugs was evaluated by the analysis of these real samples. For that purpose, the results obtained by meconium analysis were compared

with those observed by the most used indicators to detect *in utero* exposure to drugs (maternal interview and maternal hair analysis).

Meconium analysis showed to be similar or more sensitive than maternal information for the detection of intrauterine exposure, except for benzodiazepines. Regarding the comparison with maternal hair, although maternal hair analysis was more sensitive than meconium analysis for the detection of *in utero* psychoactive drugs exposure, complementary analysis of both biological matrices is recommended, since meconium allowed to detect positive cases not identified by maternal hair and, in addition, it provides direct information on fetal exposure.

Finally, the possible correlation between the results in meconium and the affectation of the anthropometric neonatal parameters (length, weight and head circumference) and the Apgar score was evaluated. No significant differences were found between exposed and unexposed neonates for any of the parameters studied, except for birth weight.







1. INTRODUCCIÓN

1.1 EPIDEMIOLOGÍA DEL CONSUMO DE DROGAS EN MUJERES EMBARAZADAS O EN EDAD FÉRTIL

El consumo de drogas produce un importante impacto negativo sobre la salud y el bienestar de las personas, y representa un grave problema a nivel mundial, tal y como lo acreditan los datos de distintos estudios epidemiológicos. Así, se estima que el 5,4% de la población mundial adulta (entre 15 y 64 años) consumió drogas al menos una vez durante el año 2017, según un estudio reciente realizado por la *United Nations Office on Drugs and Crime* (UNODC). Esa cifra supone un incremento del 30% con respecto a los datos del 2009 (4,8%) [1]. Las principales drogas ilegales consumidas en el mundo en los últimos años fueron el cannabis, los opioides, las anfetaminas, el éxtasis y la cocaína [1, 2]. A nivel de la Unión Europea el consumo de drogas en algún momento de la vida alcanzó el 29% de toda la población mayor de 15 años, y fue del 16,6% en el grupo de los adultos jóvenes (entre 15 y 34 años) en 2019 [2]. En concreto en España, esas cifras son todavía más elevadas, ya que aproximadamente un tercio de la población ha consumido drogas ilegales en algún momento de su vida [3].

El consumo de drogas puede tener lugar en cualquier momento de la vida pero, dado que predomina en adolescentes y adultos jóvenes, la mayor parte de las mujeres que consumen drogas se encuentran en edad fértil (de los 15 a los 44 años) [4,5]. La sustancia de abuso más consumida durante el embarazo es el tabaco, seguida del alcohol, el cannabis y el resto de drogas ilícitas [6,7], siendo además frecuente el policonsumo. Así, en el estudio de Cook *et al.* (2017), el 50% de las embarazadas consumidoras de drogas combinó el consumo dos o más sustancias [7].

Los principales factores psicosociales que aumentan el riesgo del consumo de drogas de abuso durante el embarazo son [8,7]:

- Madre joven (menor de 25 años)

- Bajo nivel educativo y/o económico
- Trastornos psiquiátricos
- Antecedentes familiares de consumo de drogas

La información sobre la prevalencia del consumo de sustancias de abuso durante el embarazo es limitada, pero se estima que entre el 4% y el 7,4% de las mujeres embarazadas consume drogas ilegales [7]. En EEUU, según *The National Survey on Drug Use and Health* (NSDUH), en 2019 el 18,4% de las mujeres embarazadas consumieron una o más sustancias de abuso (incluyendo el alcohol y/o tabaco) en el último mes, bajando la prevalencia al 5,8% al estudiar solo el consumo de drogas ilícitas [9].

A pesar de que en España no existe ningún informe oficial sobre el consumo de drogas durante el embarazo, sí se han realizado varios estudios en los que se evaluó dicho consumo. Un ejemplo es el “Proyecto Meconio”, llevado a cabo entre los años 2002 y 2004 en la ciudad de Barcelona en población de bajo nivel socioeconómico, en el que se encontró que en el 7,9% - 10,9% de los embarazos estudiados el recién nacido estuvo expuesto prenatalmente a drogas de abuso [10,11]. Además, en un estudio realizado en el Hospital de Can Misses de Ibiza en 2010, el 1,9% de las madres admitió haber consumido drogas durante el embarazo, subiendo dicha prevalencia al 15,9% al analizar muestras biológicas (pelo materno) [12]. Por último, en un trabajo elaborado en la Universidad de Santiago de Compostela en colaboración con el Complejo Hospitalario Universitario de Vigo en 2011, el 15,4% de las muestras de pelo materno analizadas fue positiva a alguna droga de abuso [13]. Estos datos indican que el consumo de drogas (legales e ilegales) durante el embarazo es común y, por tanto, puede provocar múltiples problemas sociales y de salud, tanto para la madre como para el niño [14].

A continuación se analizarán en profundidad la prevalencia del consumo en el embarazo del tabaco, los psicofármacos y las Nuevas Sustancias Psicoactivas (NPS, por sus siglas en inglés), sustancias objeto de estudio de esta Tesis Doctoral.

1.1.1. Tabaco

En el año 2015, el 24,9% de la población mundial mayor de 15 años era fumadora. En la población femenina dicha prevalencia era del 9,5% a nivel mundial, pero asciende al 19,5% cuando se puso el foco en Europa [15].

Entre los factores de riesgo para el tabaquismo en mujeres embarazadas destacan, además de los ya mencionados (embarazo a edades tempranas, bajo nivel educacional y/o socioeconómico, y enfermedades psicológicas como la depresión), que el embarazo sea no planeado y la convivencia con fumadores [16-19].

El consumo de tabaco durante el embarazo varía entre el 12 y el 25% a nivel mundial, dependiendo del país [7]. En Canadá, entre el 10,5 y el 13% de las mujeres fumó durante el embarazo en el 2009 [7]; mientras que en EEUU, según la NSDUH del 2019, el 17,2% de las mujeres no embarazadas admitió haber fumado en el último mes frente al 8,7% de las mujeres embarazadas. Esta prevalencia, pese a ser menor, sigue siendo considerable y un riesgo a tener en cuenta. Además, la prevalencia del consumo de tabaco disminuye cuanto mayor es la edad y el nivel económico, y a lo largo del embarazo (14,8%, 7,2% y 7,5% en el primer, segundo y tercer trimestre, respectivamente) [9].

A nivel europeo el consumo de tabaco en la población general se sitúa en torno al 20% [20]. En España entre el 22,5% y el 29,8% de las mujeres en edad fértil admiten haber consumido tabaco [21]. En cuanto al consumo durante el embarazo, el 26,2% de las madres españolas admitió haber fumado durante el embarazo en un estudio realizado en el período comprendido entre 1978 y 2002 [22]. No obstante, la mayoría de estudios realizados en embarazadas son de ámbito autonómico. Así, en Andalucía entre los años 2007 y 2012, aproximadamente el 20% de las mujeres embarazadas consumía tabaco, si bien la prevalencia del consumo descendía a lo largo del embarazo [18]. En Aragón, en un estudio realizado en la provincia de Zaragoza en el año 2009 se observó que el 37,3% de las mujeres españolas y el 19,1% de las inmigrantes fumaba antes del embarazo, disminuyendo esos porcentajes al 21,9% y 8,7% (respectivamente) al final del embarazo [23]. En la Comunidad de Madrid, entre los años 2000 y 2006, el 21,5% de las mujeres fumaron durante el embarazo [24]. En Cantabria, el 31,2% de las mujeres embarazadas consumieron tabaco en el año 2002, abandonando dicho consumo al inicio del embarazo el 20,6% de ellas [25].

En cuanto a Galicia, en un estudio realizado en el 2016, el 27,9% de las mujeres gallegas declaró haber fumado en los 6 meses previos al embarazo, bajando la prevalencia al 11,9% durante el embarazo. De igual modo disminuyó la prevalencia de mujeres que afirmaron estar expuestas al humo de tabaco ambiental (del 26,8% antes al 10,1% durante el embarazo) [26]. Finalmente, en un estudio realizado entre el 2012 y el 2014 en el Área Sanitaria de Santiago de Compostela, el 27,8% de las mujeres admitió haber fumado al inicio del embarazo y el 15,7% continuó fumando durante, al menos, el primer trimestre, por lo que el 12,1% abandonó el hábito tabáquico [19].

1.1.2. Psicofármacos

La depresión y los trastornos de ansiedad son las enfermedades mentales más comunes en el mundo. En el año 2015, el 4,4% de la población mundial sufría depresión, siendo su prevalencia mayor en mujeres que en hombres (5,1% y 3,6%, respectivamente). De igual manera ocurre con los trastornos de ansiedad, una enfermedad presente en el 3,6% de la población mundial, sobre todo en mujeres (4,6% vs. 2,6% en hombres) [27]. Estas enfermedades mentales presentan su mayor prevalencia en mujeres en edad fértil [28,29] y, al contrario de lo que se creía, el embarazo no posee un efecto protector sobre ellas [30,31]. Aproximadamente, entre el 10% y el 20% de las mujeres embarazadas sufren depresión [29,32-34], presentando valores similares la prevalencia de los trastornos de ansiedad durante el embarazo ($\approx 15\%$) [35-37].

En el caso de los psicofármacos usados en el tratamiento de estas enfermedades (antidepresivos y benzodiacepinas) se debe tener en cuenta tanto su uso bajo prescripción médica como sin ella, sobre todo para las benzodiacepinas. La proporción de mujeres a tratamiento tiende a ser mayor para los tranquilizantes y sedantes que para otras sustancias [38]; de hecho, los hipnosedantes son la única sustancia de abuso cuyo consumo es mayor en mujeres que en hombres [21].

El consumo de fármacos antidepresivos en algún momento del embarazo varía entre el 2% y el 10% según el país en el que se haya realizado el estudio de prevalencia [31]. En varios estudios realizados en Canadá a finales de los años 90 y principios de los años 2000, se observó que entre el 6,6% y el 7,8% de las mujeres tomaba fármacos antidepresivos antes de quedarse embarazada, disminuyendo dicho porcentaje a lo largo del embarazo. Además,

después del parto, la prevalencia volvía a valores previos al embarazo (7% - 7,9%) [39,40]. En EEUU, en el mismo periodo de tiempo, la prevalencia del consumo de antidepresivos durante todo el embarazo registró una mayor oscilación, siendo del 2,8% - 8,1% [29,30,41-43]. En los países europeos, los consumos reportados son menores. Así, en los Países Bajos, a principios de los años 2000, antes del embarazo el 2,9% de las mujeres estaba a tratamiento con antidepresivos, descendiendo al 1,8% al final del embarazo [44]. En Reino Unido, en el mismo periodo de tiempo, la prevalencia en mujeres embarazadas fue del 3% [45].

Las cifras de prevalencia del consumo de las benzodiazepinas durante el embarazo son muy variables, oscilando según un estudio realizado a principios de los años 90, entre el 0,3% y el 22,5%, dependiendo del país [46]. En EEUU, a finales de los años 90 y principios de los años 2000, entre el 1,3% y el 3,9% de las mujeres embarazadas consumió benzodiazepinas en algún momento del embarazo [30,41], mientras que en Noruega en el mismo periodo de tiempo, dicha prevalencia fue del 1,5% [47].

Mientras que en España no hay datos específicos en mujeres embarazadas, pero el consumo entre la población general es elevado. Así, el 26,8% de las mujeres ha consumido hipnosedantes alguna vez en su vida frente al 18,3% de los hombres. Además, entre el 6,5% y el 13% de las mujeres en edad fértil han consumido hipnosedantes en el último año. No obstante, cuando dicho consumo se realiza sin receta, la prevalencia disminuye al 1,2 - 1,6%, pero va acompañado de otras sustancias de abuso en el 40,1% de los casos [21]. En Galicia, siguiendo la tendencia de otros países, tanto el consumo de antidepresivos como el de benzodiazepinas disminuyen durante el embarazo. Según datos del 2016, en los 6 meses previos al embarazo, el 3,4% y 3,6% de las mujeres declararon que tomaban dichos fármacos (antidepresivos y benzodiazepinas, respectivamente), mientras que solo el 1,3% y el 1,8%, respectivamente, lo declaró durante el embarazo [26].

1.1.3. Nuevas Sustancias Psicoactivas

La UNODC define las Nuevas Sustancias Psicoactivas (NPS) como "sustancias de abuso, ya sea en forma pura o en preparado, que no son controladas por la Convención Única de 1961 sobre Estupefacientes ni por el Convenio sobre Sustancias Sicotrópicas de 1971, pero que pueden suponer una amenaza para la salud pública" [48]. Se trata, en general, de sustancias

con efectos similares a los de las drogas ilegales clásicas (cuyo uso está regulado por dichos tratados), y que han sido recientemente introducidas en el mercado de las sustancias recreativas.

Hay un número muy amplio de sustancias incluidas dentro del término NPS, que se agrupan en función de sus efectos o del grupo farmacológico al que pertenecen. En los últimos años destacan, por su consumo, los cannabinoides sintéticos, seguidos de las catinonas sintéticas, las benzodiazepinas sintéticas y otros compuestos como los opioides (nuevos opioides sintéticos y análogos del fentanilo) [1,49]. Se trata, además, de un mercado en continua expansión. Así, en 2020, la *European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction* (EMCDDA) monitorizó 820 NPS, de las que 53 se detectaron por primera vez en 2019 y 38 en 2020 [49].

En los últimos años se ha empezado a estudiar la prevalencia del consumo de NPS en los países de la Unión Europea. Los datos más recientes en adultos jóvenes son del año 2018: en Polonia el 1,8% consumió NPS, en Finlandia el 0,2% consumió catinonas sintéticas, en Italia el 0,6% consumió cannabinoides sintéticos y en Lituania ese porcentaje fue del 0,3% [2].

En España, el 1% de la población adulta consumió NPS en el año 2017 [3] pero, según la encuesta EDADES del 2019/2020, un 81.1% de la población nunca había oído hablar de este tipo de sustancias. Además, en el caso particular de las mujeres en edad fértil, entre el 0,8 y el 1% consumió NPS en algún momento de su vida, bajando esta prevalencia al 0,1% en el caso específico de la mefedrona. Además, entre los consumidores de NPS es muy común el policonsumo, ya que la gran mayoría (84,7%) declaró haber consumido otras drogas [21].

1.2. TRANSFERENCIA DE SUSTANCIAS DE LA MADRE AL FETO A TRAVÉS DE LA PLACENTA

Los posibles efectos en el feto del uso de drogas y/o sustancias de abuso durante el embarazo dependen de la capacidad de dichas sustancias para atravesar la barrera que separa al feto de la madre, la placenta. La placenta (**Figura 1**) es un órgano que sirve de intermediario entre la circulación sanguínea materna y la fetal, es decir, en ella se produce el intercambio de gases respiratorios, nutrientes y sustancias de deshecho. Además, es un órgano metabólicamente activo que produce las hormonas necesarias para el mantenimiento del embarazo e interviene en el metabolismo de algunas sustancias [50,51].

La placenta humana es un órgano de origen materno-fetal y es de tipo hemocorial, es decir, el tejido fetal está en contacto directo con la sangre materna. En el lado materno, la placenta está recubierta por la placa decidual o decidua, mientras que la cara fetal está recubierta por la placa coriónica o corion, que a su vez está cubierta por el amnios. Entre ambas placas se encuentra el espacio intervelloso. La decidua forma tabiques hacia los espacios intervelloso sin llegar a tocar el corion, es decir, fragmenta la placenta en unas vellosidades denominadas cotiledones. Cada cotiledón contiene un árbol de vellosidades donde se ramifican las arterias umbilicales procedentes del feto, mientras que los vasos sanguíneos maternos atraviesan la decidua y bañan el espacio intervelloso. Por tanto, la sangre materna y la fetal se encuentran separadas únicamente por el corion. Es en estas microvellosidades donde tiene lugar el intercambio de sustancias entre la madre y el feto [52-56].

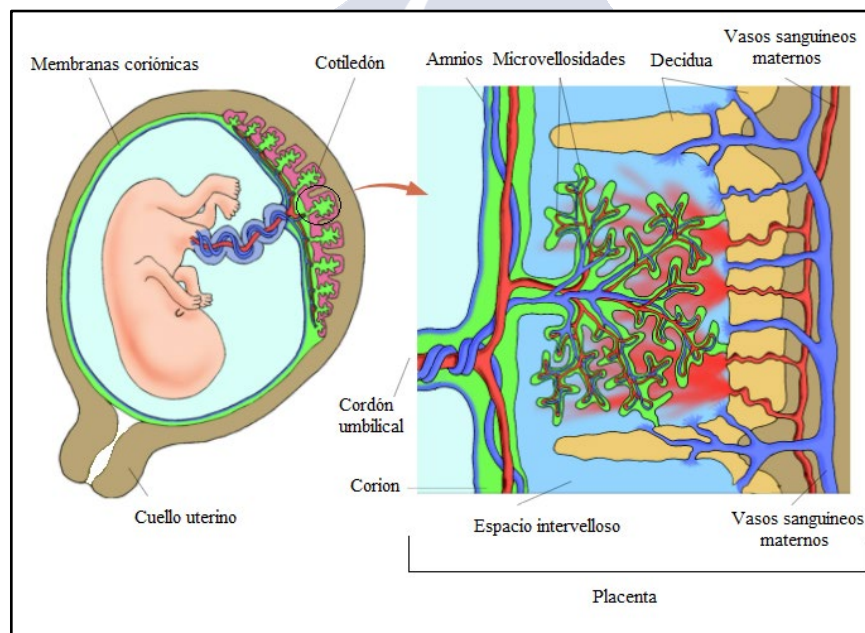


Figura 1. Barrera Placentaria. Licencia Creative Commons

(Modificado de <https://denstoredanske.lex.dk/moderkage>, bajo licencia "Etiqueta de Dominio Público 1.0")

La transferencia placentaria de las sustancias químicas, incluidas las drogas y/o sustancias de abuso, depende de distintos factores, y puede tener lugar mediante 4 mecanismos distintos [57,58]:

- **Difusión simple o pasiva:** consiste en el paso de sustancias a través de la membrana sin gasto de energía, y es el mecanismo empleado por la mayoría de los compuestos

que atraviesan la placenta [50,57]. Según la ley de Fick (**Figura 2**), la difusión simple depende del gradiente de concentración, la superficie de intercambio y el coeficiente de difusión del compuesto en particular [17,50,58]. En el caso del gradiente de concentración, las sustancias pasan de la zona con mayor concentración a la de menor [59]. La superficie de intercambio depende de la extensión y grosor de la placenta, que varía a lo largo del embarazo [59]. En la última etapa del embarazo se reduce el grosor de la placenta y aumenta su superficie, pasando de un área de intercambio de unos 3 m² a los 7 meses de embarazo a 12 m² en el final del embarazo [52]. Por lo tanto, en los últimos meses de embarazo aumenta el intercambio de sustancias entre la circulación sanguínea materna y la fetal [60]. También afecta al intercambio la distancia entre la sangre fetal y la materna, es decir, el espesor de la placenta, y, a medida que la gestación avanza, ambas circulaciones se aproximan [53].

$$J = D \cdot \frac{\Delta C}{\delta}$$

J: Ratio de difusión o flujo
 D: Coeficiente de difusión
 ΔC: Diferencia de concentraciones
 δ: Espesor de la membrana

Figura 2. Ley de Fick

- **Difusión facilitada:** aunque este mecanismo tampoco gasta energía, requiere de la presencia de un *carrier* o transportador. Este sistema se puede saturar a altas concentraciones y alcanza muy rápidamente el equilibrio en ambos lados de la membrana. Solo las drogas con una estructura similar a compuestos endógenos usan este mecanismo [52].
- **Transporte activo:** también requiere de la presencia de transportadores, pero en este caso se produce un gasto de energía. El transporte puede tener lugar en contra del gradiente de concentración y, al igual que ocurre con la difusión facilitada, solo las drogas con una estructura similar a compuestos endógenos atraviesan la placenta por transporte activo [52,59,61].

- Otros mecanismos: son mucho menos frecuentes y entre ellos destaca la **pinocitosis**, es decir, la formación de invaginaciones de la membrana placentaria en el lado materno para la posterior liberación de las sustancias en el lado fetal [59].

La **Figura 3** ilustra los diferentes mecanismos de transferencia placentaria.

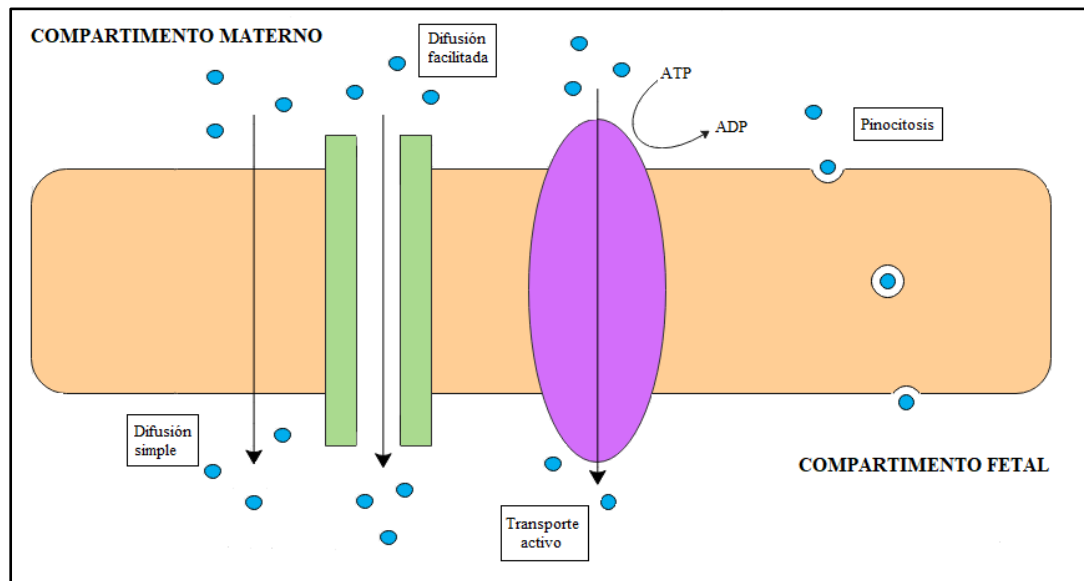


Figura 3. Mecanismos de transporte a través de la barrera placentaria

Además, aunque prácticamente cualquier sustancia puede atravesar la placenta [59], esta capacidad depende en gran medida de sus características fisicoquímicas, entre las que se incluyen:

- **Peso molecular:** a menor peso molecular, más fácil será la difusión a través de la barrera placentaria [58]. Los compuestos con un peso molecular menor o igual a 600 Da atraviesan la barrera con facilidad, y la mayoría de drogas y fármacos presentan un peso molecular entre 250 y 400 Da [4].
- **Liposolubilidad:** la permeabilidad de la placenta es similar a la de otras membranas lipídicas, de tal manera que las sustancias liposolubles atravesarán la placenta más fácilmente que las hidrosolubles [59,60].
- **Grado de ionización:** esta característica depende del pH de la sangre materna y la fetal [59,58]. Las moléculas sin carga atraviesan la placenta sin dificultad, por lo que las

bases y los ácidos débiles ($pK_b > 8,5$ y $pK_a < 4,3$ respectivamente) atravesarán la barrera placentaria fácilmente [59]. Además, el pH de la sangre fetal es relativamente ácido en comparación con el de la sangre materna; por ello, las drogas básicas tienden a alcanzar mayores concentraciones en sangre fetal porque atraviesan la barrera placentaria en su forma no ionizada y quedan “atrapadas” en la circulación fetal al ionizarse [52,62]

- **Unión a proteínas:** el grado de unión a las proteínas plasmáticas también afecta al paso de sustancias a través de la placenta [52], ya que solo atraviesan la barrera placentaria las moléculas libres [58]. Además, hay que tener en cuenta que a lo largo del embarazo se pueden producir cambios que disminuyen la concentración de proteínas plasmáticas o que afectan a su capacidad de unión [62], lo que provoca un incremento del paso de las sustancias al feto.

Sin embargo, como la mayoría de las drogas o sustancias de abuso son moléculas pequeñas y liposolubles, el factor limitante en la velocidad de su transferencia placentaria es el flujo sanguíneo [60,63]. Además, la concentración de estas sustancias en la sangre fetal también dependerá de la biotransformación placentaria y la eliminación fetal [61].

1.3. EFECTOS DEL USO DE DROGAS Y/O SUSTANCIAS DE ABUSO DURANTE EL EMBARAZO

Como se ha descrito previamente, la mayoría de las mujeres que consumen drogas y/o sustancias de abuso se encuentran en edad fértil [64,65]. El abuso de sustancias durante el embarazo está asociado con una importante morbilidad materna y fetal, y puede conducir a graves complicaciones obstétricas, en el desarrollo fetal e incluso durante la niñez. Las mujeres embarazadas que consumen drogas experimentan una gran variedad de problemas de salud, algunos específicamente causados por el uso de drogas, pero muchos otros debido a sus antecedentes sociales, que se ven exacerbados por dicho consumo [66]. Algunos de los efectos adversos más importantes que puede producir el consumo de drogas durante el embarazo son: parto prematuro, desprendimiento de placenta, mala perfusión y mal funcionamiento de la placenta (insuficiencia placentaria), muerte fetal, aborto espontáneo, sufrimiento fetal, mayor riesgo de infecciones de transmisión sexual (gonorrea, hepatitis, sífilis, VIH), mal estado nutricional materno, etc [5,6,64,67-69].

Analizando más en profundidad los efectos sobre el feto, uno de los principales es la **teratogénesis**, es decir, la alteración morfológica o funcional del feto por la exposición intraútero a sustancias externas al organismo. Los factores que determinan la susceptibilidad del feto para el desarrollo de efectos teratogénicos son [4]:

- La **naturaleza del agente teratogénico**: existen compuestos con mayor potencial teratogénico que otros.
- El **estadío de la gestación**: el momento del embarazo en el que se produce la exposición al agente teratogénico va a determinar cuál será el efecto sufrido por el feto. Existen 3 periodos de susceptibilidad:
 - Periodo de “*todo o nada*”: comprende las dos primeras semanas postconcepción. La exposición durante esta etapa puede dar lugar a dos posibles situaciones: o bien se repara el daño y el embrión sigue su desarrollo normal, o bien mueren demasiadas células pluripotenciales y el embrión no sobrevive (aborto espontáneo).
 - Organogénesis: abarca los días 15 a 60 postconcepción. Es el periodo de mayor vulnerabilidad y en el que se producen las malformaciones más severas. Cada órgano y sistema tiene su propio periodo crítico, que coincide con el de mayor diferenciación de sus células.
 - Periodo fetal: del día 60 postconcepción al fin del embarazo. En esta etapa la exposición a teratógenos puede producir retardo en el crecimiento fetal, disfunción del Sistema Nervioso Central (SNC), alteraciones del comportamiento o incluso la muerte del feto.
- La **dosis**: la dosis teratógena se encuentra entre la dosis umbral y la dosis letal. A medida que aumenta la dosis, aumenta la frecuencia de los efectos adversos y, por lo tanto, aumenta también su gravedad. Las exposiciones crónicas habitualmente tienen un mayor potencial teratógeno que las exposiciones agudas a similares dosis.
- La **susceptibilidad de la madre y el feto**: dependiendo de la capacidad de transporte placentario, absorción, metabolismo, distribución y receptores para el agente teratogénico de la madre y el feto, el efecto será mayor o menor.

Otro efecto importante del uso de sustancias durante el embarazo es el retraso del crecimiento intrauterino (RCIU) o crecimiento intrauterino retardado (CIR), el cual conduce a una disminución de los parámetros de crecimiento (menor peso al nacer y menor longitud y perímetro craneal). Otros efectos también observados son la baja puntuación en el test de Apgar y la prematuridad. Además, se debe prestar especial atención al posible desarrollo del síndrome de abstinencia neonatal (SAN), que supone una situación clínica complicada en el recién nacido, y que cursa con sudoración, hiperirritabilidad, hipertensión, nerviosismo, respuesta de sobresalto exagerada, taquicardia, convulsiones, etc [5,64,67-69]. No obstante, el diagnóstico del SAN debe realizarse teniendo en cuenta que el uso de múltiples drogas altera el patrón de abstinencia [70].

1.3.1 Efectos del tabaco

El tabaquismo durante el embarazo está asociado con un mayor riesgo de complicaciones obstétricas que, además, dependerán del trimestre de embarazo en el que tenga lugar dicha exposición. Así, mientras que en el primer trimestre se incrementa el riesgo de aborto espontáneo, en el segundo y tercero es más probable que se produzca un RCIU [69].

La exposición intraútero a la mayor parte de las drogas y/o sustancias de abuso solo puede darse de forma directa por el consumo activo de la madre. Sin embargo, el tabaco es una excepción, ya que la madre puede ser fumadora pasiva, es decir, por exposición al humo ambiental de tabaco procedente de personas fumadoras cercanas a ella, como por ejemplo su pareja. La prevalencia del consumo de tabaco en los padres es similar a la del resto de la población masculina y no se modifica en ningún trimestre del embarazo de sus parejas [71, 72]. Dicho consumo de tabaco por parte del padre también puede ser perjudicial para el embarazo y para el neonato [72-74].

Los efectos adversos del tabaquismo durante el embarazo pueden producirse sobre la mujer embarazada (problemas obstétricos), sobre el neonato en el momento del nacimiento, e incluso sobre el neonato en etapas posteriores de su vida (niñez).

1.3.1.1. Efectos obstétricos del tabaco

El consumo de tabaco durante el embarazo puede afectar tanto a la capacidad reproductiva de una mujer (infertilidad) como a la capacidad de llevar el embarazo a término sin sufrir complicaciones durante el proceso [75]. Las principales dificultades obstétricas que surgen por fumar durante el embarazo son:

- **Placenta previa:** ocurre cuando la placenta crece en la parte baja del útero, de tal forma que obstruye total o parcialmente el cuello del útero. La hipoxemia inducida por el monóxido de carbono presente en el tabaco produce un alargamiento y estrechamiento de la placenta, por lo que al ocupar esta una superficie mayor se aumenta considerablemente el riesgo a sufrir placenta previa, ya que es más probable que invada el cuello del útero [75,76].
- **Desprendimiento de la placenta:** es la separación prematura de la placenta de la pared uterina. En las mujeres embarazadas fumadoras se produce un descenso en los niveles plasmáticos de ácido ascórbico y cobre (importantes en la síntesis y mantenimiento del colágeno) que puede afectar a la elasticidad de las membranas fetales y aumentar así el riesgo de desprendimiento de placenta. Además, el consumo de tabaco reduce la respuesta inmunitaria, aumentando el riesgo a sufrir inflamaciones, y se pueden producir alteraciones degenerativas de las membranas, que también aumentan el riesgo de desprendimiento. Si el consumo de tabaco se abandona durante los primeros meses de embarazo, el riesgo a sufrir desprendimiento de placenta es similar al de las mujeres embarazadas no fumadoras [75,76].
- **Embarazo ectópico:** embarazo en el que el óvulo fecundado se implanta fuera del útero, normalmente en las trompas de Falopio. El consumo de tabaco está relacionado con la Enfermedad Inflamatoria Pélvica (EIP), uno de los principales factores de riesgo del embarazo ectópico [75].
- **Rotura Prematura de Membranas (RPM):** consiste en la rotura de las membranas y la consiguiente pérdida del líquido amniótico antes del inicio del parto. Si se produce antes de la semana 37 de gestación se denomina “**Rotura Prematura de Membranas Pretérmino**” (RPMP). El consumo de tabaco durante el embarazo afecta a la RPM y RPMP del mismo modo que al

desprendimiento de placenta (infecciones, alteraciones de las membranas y reducción del ácido ascórbico y cobre en plasma), y el cese del consumo de tabaco en los primeros meses de embarazo también es beneficioso [75,76].

- **Parto prematuro:** el tabaquismo durante el embarazo aumenta el riesgo de sufrir un parto prematuro (nacimiento 4 semanas antes de la fecha de parto estimada), pero si dicho hábito se abandona durante los primeros meses de embarazo el riesgo es similar al de las mujeres embarazadas no fumadoras [76]. Fumar aumenta el riesgo de sufrir parto prematuro al aumentar la producción de prostaglandinas en las membranas fetales [75]. Asimismo, el cadmio presente en el humo del cigarrillo afecta a las respuestas del calcio y la oxitocina (implicados en la fisiología del parto), aumentando el riesgo de parto prematuro [73].
- **Aborto espontáneo:** se considera aborto espontáneo cuando el feto muere antes de la semana 20 de embarazo. Los compuestos tóxicos presentes en el tabaco, como son la nicotina y el monóxido de carbono, pueden aumentar el riesgo a sufrirlo [75].
- **Muerte perinatal:** incluye las muertes que se producen desde la semana 28 de embarazo hasta una semana después del parto. Está relacionada con el bajo peso al nacer, la placenta previa y el desprendimiento de placenta. Por tanto, un aumento en el riesgo de sufrir dichas complicaciones conlleva un aumento del riesgo de muerte perinatal [75,76].
- **Síndrome de Muerte Súbita Infantil (SMSI):** es la muerte repentina de un niño menor de 1 año, aunque normalmente ocurre a los 2-3 meses de vida. Es la causa más común de muerte en infantes en países desarrollados. Tanto fumar durante el embarazo como después aumentan el riesgo. No obstante, es difícil diferenciar el riesgo asociado al consumo de tabaco en cada momento, ya que es bastante común que las madres que han fumado durante el embarazo continúen haciéndolo después del parto [75].

Curiosamente, el tabaco presenta un “efecto protector” en el caso de la **preeclampsia** (hipertensión arterial materna que aparece después de la vigésima semana de embarazo), pudiendo llegar a descender un 30% el riesgo a sufrirlo en comparación con las mujeres no fumadoras [77]. No obstante, este “efecto protector” está relacionado con la edad,

produciéndose solo en menores de 30 años [77]. Existen diversas teorías que explican dicho efecto, como son que el volumen del plasma se expande menos en las mujeres embarazadas fumadoras que en las no fumadoras, la presencia del tiocianato en el plasma (uno de los compuestos químicos presentes en el tabaco), que tiene propiedades hipotensoras, que la nicotina inhibe la producción fetal del tromboxano A₂, que es un potente vasoconstrictor involucrado en la preeclampsia [75,78], o que el monóxido de carbono previene la constricción vascular [77]. Además, fumar disminuye los niveles de tirosina quinasa-1, fundamental para la patogénesis de la preeclampsia [77].

1.3.1.2. Efectos del tabaco sobre el neonato

El principal efecto de la exposición intraútero al tabaco en el neonato es el **bajo peso al nacer** junto a una reducción de la longitud del neonato (en especial la longitud del fémur) y de su perímetro craneal, todo ello consecuencia de un **RCIU**.

Se considera bajo peso al nacer cuando el neonato presenta un peso inferior a 2500 g. Los hijos de madres fumadoras tienen un mayor riesgo de sufrir bajo peso al nacer, y pesan una media de 150 - 250 g menos que los de madres no fumadoras [74,76,79,80]. Además, a mayor consumo de tabaco, menor será el peso al nacer [79]. La reducción del peso en los niños de madres fumadoras tiene lugar por diversos mecanismos en los que actúan los principales compuestos presentes en el tabaco:

- La **nicotina** causa vasoconstricción uterina al inducir la liberación de catecolaminas en la madre, lo que reduce el flujo sanguíneo a la placenta, produciendo hipoxia fetal [20,71,75,81]. Además, inhibe los sistemas colinérgicos placentarios, lo que reduce el transporte transplacentario de aminoácidos, que a su vez afecta al crecimiento fetal [79,81].
- El **monóxido de carbono** desplaza al oxígeno en su unión a la hemoglobina, dando lugar a un aumento de los niveles de carboxihemoglobina en la circulación fetal y, por lo tanto, a una reducción de la oxigenación fetal. Todo ello produce una hipoxia fetal que afecta al crecimiento [20,71,75,81]. Además, el monóxido de carbono es un potente vasoconstrictor [73].

Según algunos autores, esta reducción del tamaño fetal reflejada en un bajo peso al nacer también puede deberse a un mecanismo de supervivencia, ya que el consumo de tabaco durante el embarazo produce hipoxia fetal, y un menor tamaño del feto reduce la demanda de oxígeno [82].

El abandono del hábito tabáquico en los primeros meses del embarazo resulta beneficioso para el crecimiento del feto, ya que se han encontrado valores de peso al nacer similares entre los neonatos de madres no fumadoras y los neonatos de madres que dejaron de fumar cuando se enteraron de que estaban embarazadas [75,80]. Además, se comprobó que el momento en el que consumo de tabaco tiene mayor efecto perjudicial sobre el peso del recién nacido es el tercer trimestre [20,80].

Finalmente, el consumo de tabaco durante el embarazo también puede producir SAN, sobre todo en casos en los que la madre fumaba más de 20 cigarrillos al día durante el embarazo. Los síntomas más frecuentes del SAN al tabaco son las alteraciones neuroconductuales (temblores, reflejo de Moro aumentado, deterioro de la orientación...), gastrointestinales y visuales [83].

1.3.1.3.Efectos del tabaco en la niñez

Además de los problemas obstétricos y en el neonato, el consumo de tabaco durante el embarazo también puede producir efectos adversos en etapas posteriores de la vida del recién nacido. El efecto adverso más destacado del tabaquismo durante el embarazo es la **adicción a la nicotina** de la descendencia en la etapa adulta, es decir, los hijos de madres fumadoras presentan un mayor riesgo de ser fumadores [81,84]. Existen varias explicaciones a esta relación; para empezar, las madres que fuman durante el embarazo es muy probable que lo continúen haciendo después del parto, de tal manera que los niños estarán expuestos al humo del tabaco siendo fumadores pasivos, lo que facilitará que, llegada una edad, pasen a consumir tabaco y desarrollar una adicción a la nicotina. Pero esta relación también está afectada por componentes genéticos y fisiológicos, ya que la nicotina que llega al feto puede afectar directamente a su desarrollo neuronal, principalmente a las vías de los neurotransmisores [84].

Otro de los efectos adversos que se puede producir en etapas posteriores de la vida por la exposición intraútero a tabaco es un aumento del riesgo a sufrir **Trastorno por Déficit de Atención e Hiperactividad (TDAH)** durante la niñez [75,81,85]. Además, se ha observado

que, al contrario que con el resto de efectos adversos del tabaquismo durante el embarazo sobre el neonato, el abandono de este hábito en los primeros meses de embarazo no elimina el riesgo. Esto es debido a que en el primer trimestre se produce parte del desarrollo neurológico fetal, por lo que tanto la exposición al tabaquismo durante todo el embarazo como el cese en los primeros meses presentan riesgo de producir TDAH infantil [85].

El tabaquismo en mujeres embarazadas también aumenta **el riesgo de hospitalización** durante los primeros años de vida por infecciones en la vías respiratorias bajas y a presentar mayor sintomatología respiratoria durante la niñez (sibilancias, asma...) [74,75].

Por último, la asociación entre el consumo de tabaco durante el embarazo y el **cáncer infantil** es más controvertida. En efecto, a pesar de que el tabaco posee productos carcinogénicos que atraviesan la barrera placentaria (benceno y nitrosaminas), no se ha encontrado una asociación significativa en estudios epidemiológicos realizados en humanos [75].

1.3.2. Efectos de los psicofármacos

Como se ha mencionado anteriormente, las mujeres embarazadas también presentan riesgo de sufrir trastornos mentales como la depresión o la ansiedad. A la hora de tratar dichas patologías en una embarazada se deben valorar minuciosamente la gravedad de la enfermedad junto con los beneficios y riesgos de la medicación usada para su tratamiento [86-88].

Entre un 31% y 40% de las mujeres embarazadas que consumen benzodiazepinas también están a tratamiento con antidepresivos [88,89]. No obstante, como en el tratamiento de estas patologías también se prescriben habitualmente otros fármacos (antiepilépticos, antipsicóticos) [45,88,90], es complicado aislar el efecto de los antidepresivos y benzodiazepinas sobre el feto del resto de cofactores [88,91].

1.3.2.1. Fármacos Antidepresivos

El suicidio es el principal riesgo de una depresión no tratada y es una de las mayores causas de muerte en mujeres embarazadas [92]. Otros de los riesgos de una depresión no tratada durante el embarazo son la mala nutrición, el consumo de sustancias de abuso (como

el tabaco o el alcohol) y la no asistencia a las citas con el ginecólogo para el control del embarazo [86,92].

El uso de **fármacos antidepresivos** para tratar la depresión durante el embarazo es altamente recomendable, pero dicho consumo no está exento de riesgos. Los antidepresivos pueden atravesar la barrera placentaria y, de esta forma, llegar al feto y producirle daños [88,92]. Algunos estudios sugieren que el uso de antidepresivos durante el embarazo aumenta el riesgo de aborto espontáneo, parto prematuro y bajo peso al nacer [44,45,92-94]. Mientras que otros estudios apuntan a que dichos efectos adversos están más asociados con la enfermedad que con los fármacos usados en su tratamiento [86,88,95] ya que, por ejemplo, en el caso del bajo peso al nacer puede asociarse al consumo de antidepresivos, pero también a la depresión, que provoca pérdida del apetito y una peor nutrición materna [94]. El efecto adverso que está claramente relacionado con el consumo de antidepresivos durante el embarazo, concretamente con los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS), es el “**Síndrome Serotoninérgico**”. Esta afección se debe a un exceso de serotonina y suele producir dificultad respiratoria, problemas gastrointestinales, cambios del tono muscular, hipotermia, etc [94,96].

Por todo ello, el uso de fármacos antidepresivos en mujeres embarazadas continúa siendo un tema controvertido, ya que no existen datos definitivos y concluyentes sobre su seguridad. Además, la mayoría de ellos se encuentran en la categoría C de la *Food and Drug Administration* (FDA) (existe evidencia de riesgo fetal en animales, pero no hay estudios en humanos), aunque la paroxetina ha sido reclasificada a la categoría D (existe evidencia de riesgo fetal en humanos, pero en algunos casos se permite su uso porque los beneficios superan los riesgos) [97].

1.3.2.2. Benzodiazepinas

La **ansiedad** durante el embarazo tampoco está exenta de riesgo para el normal desarrollo del embarazo y del feto [98], ya que se relaciona con un mayor riesgo de parto prematuro y/o complicado (prolongado, con necesidad de aparataje como el fórceps...), bajo peso al nacer y un menor perímetro craneal [99]. Por lo tanto, se recomienda el uso de benzodiazepinas y/o tratamientos alternativos no farmacológicos para su control.

Las **benzodiazepinas**, al igual que los fármacos antidepresivos, pueden cruzar la barrera placentaria con facilidad [89,90,100], sobre todo en los últimos meses de embarazo

[101], y afectar así al normal desarrollo del feto. Algunos de los efectos adversos relacionados con el uso de benzodiazepinas durante el embarazo son: aborto espontáneo, parto prematuro, bajo peso al nacer y baja puntuación en el test de Apgar [89,90,101]. Tradicionalmente, el uso de benzodiazepinas durante el embarazo se ha relacionado con un mayor riesgo del neonato a sufrir malformaciones congénitas como el paladar hendido, pero numerosos estudios a lo largo de los años han cuestionado dicho efecto adverso [102,103]. El consumo de benzodiazepinas durante la última etapa del embarazo también se relaciona con el **Síndrome Hipotónico del Recién Nacido (SHRN)**, que se caracteriza por un estado de aletargamiento (baja puntuación en el test de Apgar), hipotonía muscular, dificultad respiratoria, hipotermia, etc [89,100,104].

Con el estudio de cada benzodiazepina por separado, en lugar de como grupo farmacológico, se ha podido observar que algunas son más seguras que otras en su uso en mujeres embarazadas. Mientras que el alprazolam es recomendable evitarlo tanto durante el embarazo como en la lactancia, el uso de diazepam durante el embarazo parece ser seguro (no así durante la lactancia) [100]. Al igual que ocurría con los fármacos antidepresivos, la mayoría de las benzodiazepinas se encuentran en las categorías C y D de la FDA [101].

1.3.2.3. Síndrome de Abstinencia Neonatal

El **SAN** es un trastorno complejo resultado de la interrupción brusca de la exposición del neonato a sustancias a las que desarrolló dependencia mientras estuvo expuesto durante el embarazo por consumo materno [105,106]. Se caracteriza por numerosos síntomas, siendo los más habituales: convulsiones, irritabilidad, lloro excesivo, mala nutrición debida a una dificultad para alimentarse, problemas gastrointestinales, fiebre, etc [96,104,105,107]. Dependiendo de la sustancia a la que el neonato haya estado expuesto estos síntomas empezarán entre las 12 horas y los 3 días de vida, y se expresarán con mayor o menor intensidad. Esta variabilidad supone un reto para los clínicos a la hora de diagnosticar el SAN. Además, el frecuente policonsumo en las madres usuarias de sustancias de abuso durante el embarazo complica aún más dicho diagnóstico [107].

Inicialmente, el SAN solo se relacionaba con el consumo de opioides durante el embarazo, pero en los últimos años se ha comprobado que la exposición intraútero a otras drogas y/o sustancias de abuso también puede causarlo [107]. Así, tanto el uso de fármacos antidepresivos [45,88,105] como el de benzodiazepinas [99,100,104,105] durante el embarazo

están relacionados con el SAN, sobre todo si dicho consumo tuvo lugar en el tercer trimestre y/o cerca del momento del parto [99,101]. En los fármacos antidepresivos se debe a un exceso de serotonina y noradrenalina (relacionado con los ISRS) y con los inhibidores selectivos de la recaptación de noradrenalina (IRSN) o a un fenómeno de rebote colinérgico (antidepresivos tricíclicos, ATC). En el caso de las benzodiazepinas se produce por una mayor liberación de ácido γ -aminobutírico [105].

Para evitar el SAN, el uso de medicamentos antidepresivos y benzodiazepinas debe suspenderse gradualmente [97,99], pero teniendo en cuenta que su suspensión durante el último mes del embarazo, además de reducir la aparición de síntomas en el recién nacido, también puede aumentar el riesgo de depresión posparto y/o ansiedad en la madre [86].

1.3.3. Efectos de las Nuevas Sustancias Psicoactivas

El consumo de NPS en la población es relativamente reciente, por lo que aún no se conocen en profundidad sus potenciales efectos adversos, y mucho menos en sectores específicos de la población como las mujeres embarazadas. Debido a que son drogas sintetizadas para mimetizar los efectos de las drogas clásicas (cocaína, anfetaminas, opioides y cannabis), sus efectos adversos también son similares a los de dichas sustancias de abuso. Estudiando en profundidad cada grupo de NPS, sus principales efectos adversos son:

- **Cannabinoides sintéticos:** en la población general su consumo produce afectación cardíaca, gastrointestinal, neuropsiquiátrica y renal. Los síntomas que aparecen con mayor frecuencia son taquicardias, hipertensión, náuseas, vómitos, temblores, irritabilidad, nerviosismo, ansiedad y daño renal agudo [108]. Específicamente en las mujeres embarazadas su consumo también puede aumentar el riesgo a sufrir eclampsia (convulsiones en la mujer embarazada que aparecen después de la vigésima semana de gestación) [109].
- **Catinonas sintéticas:** el consumo de estas drogas se asocia con numerosas complicaciones médicas y psiquiátricas entre las que se encuentran: taquicardias, hipertensión, problemas gastrointestinales, Síndrome Serotoninérgico, alucinaciones, agresividad, etc [108]. En los recién nacidos expuestos a estas sustancias se ha observado RCIU y SAN [64,109]. Además, se ha comprobado que el consumo de *khat*

(planta de la cual se extrae la catinona) durante el embarazo está relacionado con un menor peso del recién nacido debido a que reduce el flujo sanguíneo útero-placentario y tiene efectos anorexígenos [110-112].

- **Derivados del fentanilo y otros opioides sintéticos:** su uso se relaciona con una disminución del nivel de consciencia y depresión respiratoria, y también con otros efectos adversos como náuseas y desorientación [113]. El consumo de opioides en mujeres embarazadas aumenta el riesgo de sufrir aborto espontáneo, preeclampsia, RPM y desprendimiento de la placenta [114]. Además se relaciona la exposición intraútero a estas sustancias de abuso con el RCIU y con el desarrollo del SAN [64,109,115].

Debido a que los efectos adversos del consumo de NPS durante el embarazo son tan variados como las drogas que forman parte de este grupo de sustancias de abuso, su detección es complicada. No obstante, la presencia en el neonato de síndromes como el serotoninérgico o de abstinencia pueden ayudar a los clínicos a detectar el consumo de estas drogas durante el embarazo [109].

1.4. METODOLOGÍA USADA PARA LA DETECCIÓN DE LA EXPOSICIÓN PRENATAL A SUSTANCIAS DE ABUSO

Las dos principales metodologías para la detección del consumo de sustancias durante el embarazo son la **entrevista materna** y el **análisis de muestras biológicas** procedentes de la madre y/o el feto. A continuación, se profundizará un poco más en cada una de ellas.

1.4.2. Entrevista materna

La **entrevista materna** es el método más frecuentemente utilizado para la detección del consumo de sustancias durante el embarazo, ya que es un método fácil de implementar, barato y con resultados inmediatos [116]. Sin embargo, se trata de un método de detección subjetivo y el número de casos reportados suele estar muy por debajo de la prevalencia real. Además, la validez de estas entrevistas es compleja, ya que depende de diversos factores como son:

- Percepción social del consumo de dichas sustancias durante el embarazo: se tiende a ocultar el consumo de sustancias de las que su potencial efecto negativo sobre la salud es conocido por la población general. En el caso de las drogas ilegales la admisión de su consumo suele ser bastante inferior a lo esperado [12,13]. Para las drogas legales, como el tabaco o el alcohol, depende más de cómo se percibe su consumo en el país en el que se realiza el estudio. Por ejemplo, en ambientes antitabaco o en los que el consumo de alcohol en las mujeres está estigmatizado, las madres tienden a ocultar más su consumo que cuando está socialmente aceptado [117,118].
- Miedo a posibles repercusiones legales al admitir el consumo de ciertas sustancias, como pueden ser la retirada de la custodia de los hijos o incluso penas de cárcel. Este factor es variable en función del país en el que se realice el estudio, ya que dependerá de si existen leyes que penalicen su uso o no [118,119].
- Método utilizado en la entrevista: la forma, el lugar o la persona que realizan la entrevista influyen también en el resultado. Todos los métodos para realizar la entrevista materna sobre el consumo de sustancias tienen sus ventajas e inconvenientes. Algunos ejemplos son:
 - “*Bogus pipeline*”: consiste en realizar la entrevista con un polígrafo falso con la intención de que las entrevistadas respondan sinceramente a las preguntas [120].
 - Entrevistas periódicas y siempre con el mismo personal sanitario: se intenta mejorar la fiabilidad de la entrevista al crear un ambiente de confianza y cierta privacidad entre el clínico y la madre. [120,121].
 - Cuestionario sobre los datos demográficos y los hábitos de consumo durante el embarazo realizado en el hospital (antes o después del parto) [12,13,122].
 - Cuestionarios anónimos enviados a los domicilios de las embarazadas participantes en el estudio [117].
- Sesgos en la memoria de la entrevistada: es complicado recordar todo lo consumido durante meses y, sobre todo, datos más específicos como la frecuencia o dosis de dicho consumo [119,123].
- Frecuencia de consumo: las consumidoras habituales tienden a informar en menor medida de su consumo en comparación con las ocasionales [116]. Esto sucede, por

ejemplo, en el caso del tabaco, en el que las fumadoras severas admitieron el consumo de tabaco durante el embarazo, pero con una frecuencia de consumo por debajo de la detectada con otros métodos como el análisis de muestras biológicas [117].

Se han realizado numerosos estudios sobre el consumo de drogas y/o sustancias de abuso durante el embarazo en los que se han comparado las respuestas a las entrevistas maternas con el análisis de muestras biológicas procedentes de la madre y/o el feto. Al comparar el resultado de la entrevista materna con el análisis de muestras biológicas como el pelo materno o el meconio para la detección de drogas ilegales se encontró que la entrevista es el método menos sensible [120]. Específicamente, en el estudio de Lendoiro et al. [13] la entrevista materna infraestimaba el consumo de sustancias durante el embarazo, ya que solo en torno a un 20% de los casos positivos en pelo materno habían admitido el consumo de sustancias en la entrevista. Friguls et al. [12] detectaron 10 veces más casos positivos mediante el análisis de pelo que mediante la entrevista materna (16% vs. 1,9%). Como se mencionó anteriormente, esta infraestimación de la entrevista materna también se produce con las drogas legales como son el tabaco y el alcohol. Así, en un estudio sobre el consumo de tabaco en el embarazo se comprobó que, mientras que aproximadamente un 30% de las muestras de orina maternas fueron positivas a cotinina (metabolito de la nicotina utilizado como biomarcador para la determinación del consumo de tabaco), solo un 15% de las embarazadas admitió su consumo [117]. De modo similar, al comparar la prevalencia de la exposición prenatal al alcohol detectada mediante el análisis de meconio y mediante la entrevista materna, Lange et al. [118] detectaron 4 veces más positivos en la matriz biológica. Finalmente, Manich et al. [124] detectaron el triple de casos positivos con el análisis del meconio que con la entrevista.

Por todo ello se puede concluir que el análisis de muestras biológicas es un método más objetivo que la entrevista materna para la detección del consumo de sustancias durante el embarazo.

1.4.2. Análisis de muestras biológicas

Las muestras biológicas a analizar para detectar la exposición prenatal a drogas y/o sustancias de abuso pueden ser de origen materno y/o fetal (**Figura 4**). Dentro de las muestras de origen materno se encuentran la sangre o plasma, el fluido oral, la orina, el sudor y el pelo; mientras que las principales muestras de origen fetal son la orina, el pelo neonatal y el meconio.

También se pueden analizar muestras de origen materno-fetal como son el líquido amniótico, la placenta y el cordón umbilical. Las muestras de origen materno no son un indicador directo de la exposición fetal a drogas o sustancias de abuso, pero sirven de guía al clínico para conocer a qué sustancias pudo haber estado expuesto el feto, para así poder ser consciente del problema y tomar decisiones en cuanto al tratamiento lo antes posible. Cada una de estas muestras presenta distintas ventajas e inconvenientes referentes a su sensibilidad, facilidad de recolección y/o ventanas de detección (**Figura 5**) que se abordarán a continuación [125-129]:

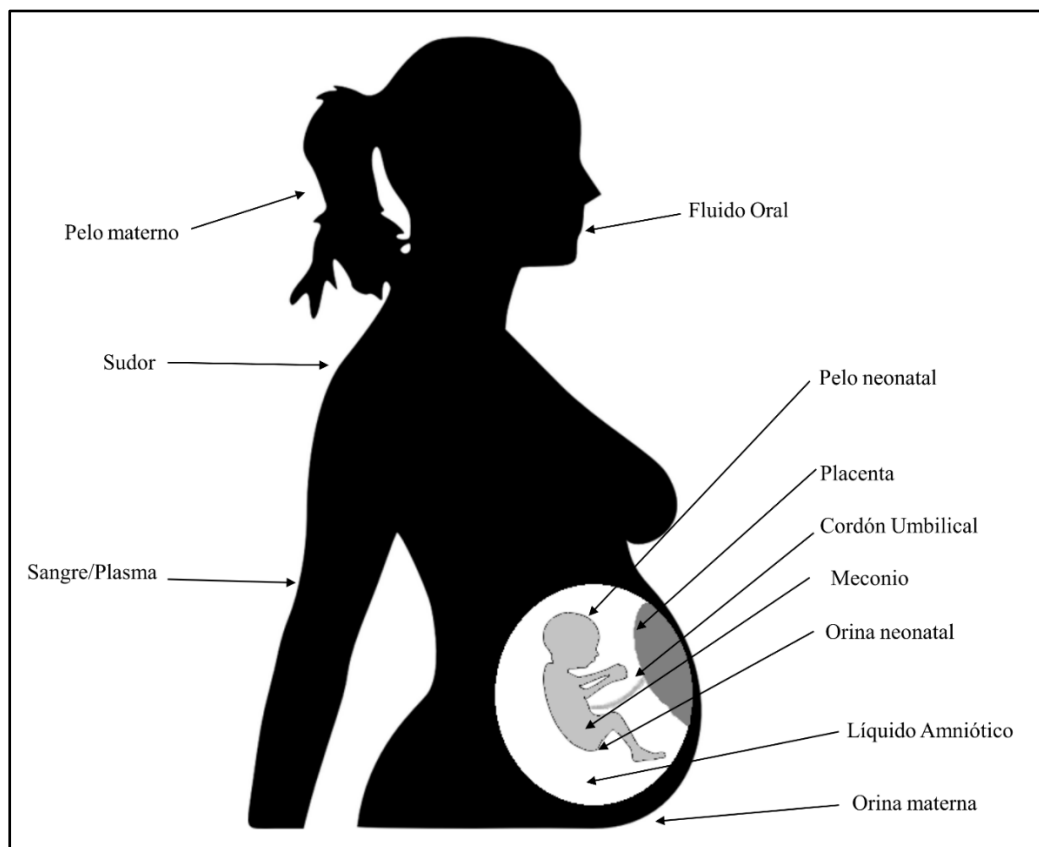


Figura 4. Muestras biológicas analizadas en la exposición prenatal a sustancias. Licencia Creative Commons

(Modificado de <https://search.creativecommons.org/photos/a4e39bb2-5b72-4a39-a4d4-7b8650fe90df>, bajo licencia CC0 1.0)

- La **sangre y/o el plasma** son muestras biológicas con una ventana de detección de horas, por lo que habría que recogerlas en repetidas ocasiones a lo largo del embarazo y, por ello, su análisis no tiene mucha utilidad a la hora de detectar la exposición intraútero a drogas de abuso. Además, su recolección es invasiva, requiere personal sanitario y presenta riesgo de infección. De igual manera, la ventana de detección del **fluido oral** es corta, aunque su recolección es fácil y no invasiva.

- La **orina materna** es la muestra biológica más comúnmente utilizada para monitorizar el consumo de drogas en la población general, ya que su recogida es fácil y no invasiva, y su ventana de detección es de varios días. En el caso de las mujeres embarazadas se puede realizar la toma de muestra en cada cita médica para realizar un seguimiento del consumo de sustancias durante el embarazo. Pero, como todas las muestras de origen materno, da información indirecta sobre la exposición del neonato. Por otro lado, la **orina neonatal** era la muestra que se usaba tradicionalmente para la detección de la exposición intraútero a drogas. Esta muestra, al igual que la orina materna, presenta una ventana de detección de solo unos días antes del parto, ya que, aunque la orina empieza a formarse en la 8ª semana de embarazo, se elimina continuamente en el líquido amniótico. Por tanto, será este último el que acumule las sustancias a las que estuvo expuesto el feto durante todo el embarazo. Además, la recolección de la orina neonatal es más complicada que la de la orina materna, ya que consiste en adherir una bolsa colectora, que con frecuencia no se adhiere y se pierde la muestra, y además puede irritar la piel del neonato.
- El **sudor** tiene una ventana de detección que puede llegar a la semana, ya que su método de recolección consiste en parches no invasivos aplicados en la piel durante varios días, de tal forma que acumularán todas las drogas excretadas en el sudor en ese período. No obstante, como es difícil cuantificar la cantidad de sudor excretado, su análisis solo puede ser cualitativo.
- El **pelo materno** presenta la ventana de detección más amplia, ya que puede ser de meses o incluso años. Esto es debido a que el cabello crece a razón de 1 cm al mes. Por tanto, si es suficientemente largo, puede dar información del consumo durante todo el embarazo. Además, su recolección es fácil y no invasiva, y se puede almacenar a temperatura ambiente. Por todo esto, el pelo materno podría considerarse el “*gold standard*” en la exposición intraútero a sustancias de abuso si no fuese por su principal desventaja, y es que su análisis no ofrece información directa sobre la exposición fetal. Por otro lado, el **pelo neonatal** presenta una ventana de detección que abarca el último trimestre de embarazo, ya que empieza a formarse en el 6º mes de embarazo, y se puede recoger hasta los 3 meses de vida, momento en el que es remplazado por el pelo definitivo. Es fácil de recoger y se almacena a temperatura ambiente, pero no siempre

está presente en suficiente cantidad y los padres pueden negarse a su recogida por motivos religiosos y/o estéticos.

- El **líquido amniótico** es el líquido protector que rodea al feto y actúa como depósito de la excreción fetal, por lo que en él se acumulan las sustancias (fármacos y/o drogas) a las que está expuesto el feto durante el embarazo. Aunque es una muestra biológica interesante en el estudio de la exposición intraútero a sustancias de abuso su recolección es demasiado invasiva y peligrosa (amniocentesis).
- Tanto la **placenta** como el **cordón umbilical** son muestras biológicas procedentes de la unidad materno-fetal. La placenta se forma completamente a las 4 semanas de embarazo y es la interfaz en la que tiene lugar el intercambio de nutrientes y sustancias de deshecho entre la sangre materna y la fetal, mientras que el cordón umbilical conecta el feto con la placenta para que tenga lugar dicho intercambio. Son muestras que siempre están disponibles, y su recolección es fácil y no invasiva. Se cree que el cordón umbilical podría presentar una ventana de detección similar a la del meconio, pero no se puede afirmar con toda seguridad, ya que no existen suficientes estudios al respecto. La placenta se sabe que actúa como depósito para las drogas y su análisis podría ser útil para la detección de la exposición intraútero a drogas, pero no se conoce su ventana de detección. Por todo ello, ambas muestras se consideran interesantes alternativas, pero sin suficiente información que certifique su utilidad.
- El **meconio**, la primera deposición del recién nacido, y matriz objeto de esta Tesis Doctoral, será analizado en más profundidad.

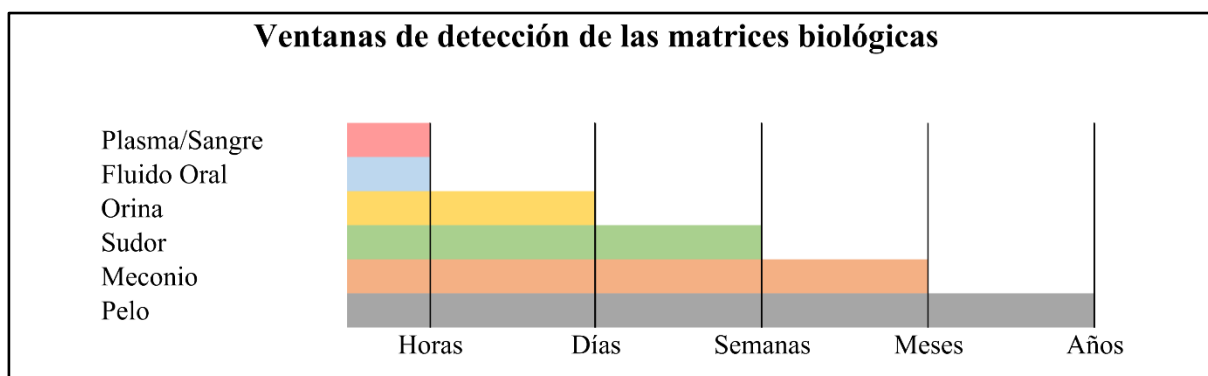


Figura 5. Comparativa de la ventana de detección de las diferentes matrices biológicas usadas en la detección de la exposición intraútero a drogas y/o sustancias de abuso

1.4.2.1 El meconio como “*gold standard*” en la detección de la exposición intraútero a drogas y/o sustancias de abuso

El meconio es la primera deposición del recién nacido y se diferencia de las heces normales por su apariencia (textura viscosa y de color negro/verde) y su falta de olor. Es una matriz de composición muy compleja, ya que está formada por: agua, lípidos, azúcares, secreciones pancreáticas e intestinales, sales biliares, células epiteliales, proteínas y residuos del líquido amniótico ingerido, entre otras muchas sustancias [130,131]. Comienza a formarse en la semana 12 de embarazo, pero su producción se incrementa a medida que el feto crece y madura, llegando a formarse el 75% del meconio en la última etapa del embarazo. Por tanto, aunque comienza a formarse en el segundo trimestre del embarazo, su análisis proporciona información, sobre todo, del tercer trimestre [128,131,132].

En la actualidad, el análisis de **meconio** es considerado el método más preciso para la detección de la exposición intraútero a sustancias, ya que proporciona información directa sobre la exposición prenatal a drogas y presenta una amplia ventana de detección. Tanto las sustancias originales como sus metabolitos pueden estar presentes en el meconio y en concentraciones que van de los nanogramos a los microgramos por gramo (ng/g a µg/g) [126]. Además, presenta una ventana de recolección amplia, entre 12 y 72 horas después del parto, pudiendo llegar incluso a los 5 días (en prematuros su expulsión se puede retrasar). Siempre y cuando no se pierda (por ser expulsado en el útero), su recolección es fácil y no invasiva [128,130]. Además, se puede recoger una importante cantidad de muestra (pudiendo llegar a ser de varios gramos) [126], aunque en ocasiones la cantidad disponible es muy escasa y hay que seleccionar los análisis a realizar.

Como ya se vio anteriormente, los metabolitos de los fármacos y/o drogas llegan a la circulación fetal mediante transferencia placentaria. Una vez atravesada la placenta, dichas sustancias se van acumulando en el meconio por depósito directo de la bilis y por la ingestión de los metabolitos presentes en el líquido amniótico. En efecto, a medida que el feto va excretando los metabolitos a través de la orina al líquido amniótico, los vuelve a ingerir por el proceso conocido como deglución fetal [70,123,130].

El meconio también tiene inconvenientes, sobre todo, desde el punto de vista de la metodología analítica. Se trata de una muestra biológica muy sucia y de composición muy

compleja, por lo que antes de su análisis debe pasar por varios procesos de homogeneización y extracción de los que dependerá la recuperación de los metabolitos presentes en él [126,131].

Para homogeneizar el meconio se puede mezclar con solventes acuosos, solventes orgánicos (como el metanol o el acetonitrilo) o con tampones; después se sonica y/o centrifuga. Además de la homogeneización, en función de la sustancia a identificar, puede ser necesario realizar un proceso de hidrólisis, que puede ser ácida, básica o enzimática [129].

Después de la homogeneización e hidrólisis (si es necesaria) se llevará a cabo la extracción, cuyo propósito es el de eliminar sustancias endógenas que interfieren en el análisis de la matriz biológica y, a su vez, concentrar los analitos de interés. La extracción puede ser Líquido-Líquido (LLE, por sus siglas en inglés) o en Fase Sólida (SPE, por sus siglas en inglés). En la LLE se mezcla un solvente orgánico y uno acuoso inmiscibles, de tal manera que los metabolitos se distribuirán en uno u otro dependiendo de su polaridad. Así, usando la combinación correcta de solventes se puede aumentar la recuperación de los compuestos presentes en la muestra biológica y disminuir la presencia de interferentes. La SPE es un proceso mediante el cual una fase líquida (muestra) se hace pasar por una fase sólida (adsorbente), en la que los analitos quedaran retenidos en función de su afinidad por la misma, produciéndose así su separación de los componentes propios de la muestra. Después de lavar el relleno de la fase sólida con distintos disolventes, se hará pasar el solvente de elución apropiado para liberar los analitos. Para la SPE se pueden usar cartuchos o columnas de extracción con distintos tipos de adsorbentes según las características químicas de los analitos de interés. Existe una amplia variedad de adsorbentes, si bien los más comúnmente utilizados son [131,133]:

- Adsorbentes de fase reversa: son apolares y retienen las moléculas cuando se encuentran en su forma no ionizada.
- Adsorbentes de intercambio iónico: pueden ser de intercambio aniónico o catiónico. Son más selectivos que los de fase reversa, ya que solo retienen aniones o cationes, respectivamente.
- Adsorbentes de modo mixto: Son los más selectivos, ya que combinan las propiedades de los anteriores. Pueden ser de fase reversa/intercambio aniónico o de fase reversa/intercambio catiónico.

Una vez preparada la muestra biológica, el procedimiento a seguir para su análisis cuando no se tienen datos concretos de las sustancias consumidas es [131]:

- En primer lugar, suele realizarse un **screening**, generalmente mediante técnicas de inmunoensayo como: el enzimoimmunoanálisis (EIA), la técnica de ensayo inmunológico por multiplicación enzimática (EMIT), el inmunoensayo de polarización fluorescente (FPIA), el radioinmunoensayo (RIA) y el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA).
- Si el screening da positivo se realizará un **análisis de confirmación**. Para ello se utilizan métodos más específicos como son los análisis cromatográficos acoplados a espectrometría de masas, ya sean de líquidos (LC-MS/MS) o de gases (GC-MS).

En cuanto a los compuestos de interés de esta Tesis Doctoral, existen diversos métodos para su detección. Cada método presenta sus propios procesos para el tratamiento y análisis de la muestra. En el capítulo referente a la Discusión de esta Tesis Doctoral se analizarán las principales características de los métodos publicados hasta la fecha para la detección del consumo de tabaco [134-146], fármacos antidepresivos y benzodiazepinas [147-151] y NPS [152,153] en meconio.

1.5. BIBLIOGRAFÍA

1. World Drug Report 2020. Booklet 2: Drug use and health consequences. (United Nations publication, Sales No. E.20.XI.6). 2020. Disponible en: https://wdr.unodc.org/wdr2020/field/WDR20_Booklet_2.pdf [Consultado 22 Diciembre 2020]
2. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. European Drug Report 2020: Trends and Developments, Publications Office of the European Union, Luxembourg. 2020. Disponible en: https://www.emcdda.europa.eu/system/files/publications/13236/TDAT20001ENN_web.pdf [Consultado 22 Diciembre 2020]
3. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. Spain Country Drug Report 2019. Disponible en: <https://www.emcdda.europa.eu/system/files/publications/11353/spain-cdr-2019.pdf> [Consultado 22 Diciembre 2020]
4. Cruz Landeira A, Bouzas Montero CA, Concheiro Guisán M, de Castro Ríos A, Quintela Jorge O, Bermejo Barrera AM, et al. Drogas y teratogenia. Adicciones. 2006;18(1):245-261.
5. Vucinovic M, Roje D, Vučnović Z, Capkun V, Bucat M, Banović I. Maternal and neonatal effects of substance abuse during pregnancy: our ten-year experience. Yonsei Med J. 2008;49(5):705-713.
<https://doi.org/10.3349/ymj.2008.49.5.705>
6. Forray A. Substance use during pregnancy. F1000Research. 2016;5.
<https://doi.org/10.12688/f1000research.7645.1>
7. Cook JL, Green CR, de la Ronde S, Dell CA, Graves L, Ordean A, et al. Epidemiology and effects of substance use in pregnancy. J Obstet Gynaecol Can. 2017;39(10):906-915. <https://doi.org/10.1016/j.jogc.2017.07.005>
8. Wendell AD. Overview and epidemiology of substance abuse in pregnancy. Clin Obstet Gynecol. 2013;56(1):91-96.
<https://doi.org/10.1097/GRF.0b013e31827feeb9>

9. Center for Behavioral Health Statistics and Quality. Results from the 2019 National Survey on Drug Use and Health: Detailed tables. Rockville, MD: Substance Abuse and Mental Health Services Administration. 2020. Disponible en: <https://www.samhsa.gov/data/report/2019-nsduh-detailed-tables> [Consultada 22 Diciembre 2020]
10. Pichini S, Puig C, Zuccaro P, Marchei E, Pellegrini M, Murillo J, et al. Assessment of exposure to opiates and cocaine during pregnancy in a Mediterranean city: preliminary results of the “Meconium Project”. *Forensic Sci Int.* 2005;153(1):59-65. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2005.04.013>
11. García-Algar O, Vall Combelles O, Puig Sola C, Mur Sierra A, Scaravelli G, Pacifici R, et al. Exposición prenatal a drogas de abuso a través del análisis de meconio en una población de bajo nivel socioeconómico en Barcelona. *An. Pediatr.* 2009;70(2):151-158. <https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2008.08.008>
12. Friguls B, Joya X, Garcia-Serra J, Gómez-Culebras M, Pichini S, Martinez S, et al. Assessment of exposure to drugs of abuse during pregnancy by hair analysis in a Mediterranean island. *Addiction.* 2012;107(8):1471-1479. <https://doi.org/10.1111/j.1360-0443.2012.03828.x>
13. Lendoiro E, González-Colmenero E, Concheiro-Guisán A, de Castro A, Cruz A, López-Rivadulla M, et al. Maternal hair analysis for the detection of illicit drugs, medicines, and alcohol exposure during pregnancy. *Ther Drug Monit.* 2013;35(3):296-304. <https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e318288453f>
14. World Health Organization. Guidelines for the identification and management of substance use and substance use disorders in pregnancy. 2014. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/107130> [Consultada 22 Diciembre 2020]
15. WHO global report on trends in prevalence of tobacco use 2000–2025, third edition. Geneva: World Health Organization. 2019. Disponible en: <https://www.who.int/tobacco/publications/surveillance/trends-tobacco-smoking-second-edition/en/> [Consultado 22 Diciembre 2020]
16. Villalbí JR, Salvador J, Cano-Serral G, Rodríguez-Sanz MC, Borrell C. Maternal smoking, social class and outcomes of pregnancy. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2007;21(5):441-447. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3016.2007.00845.x>

17. Schneider H. Placental transport function. *Reprod Fertil Dev.* 1991;3(4):345-353.
<https://doi.org/10.1071/rd9910345>
18. Mateos-Vílchez PM, Aranda-Regules JM, Díaz-Alonso G, Mesa-Cruz P, Gil-Barcenilla B, Ramos-Monserrat M, et al. Prevalencia de tabaquismo durante el embarazo y factores asociados en Andalucía 2007-2012. *Rev Esp Salud Publica.* 2014;88(3):369-381. <https://doi.org/10.4321/S1135-57272014000300007>
19. Míguez Varela MC, Pereira B. Prevalencia y factores de riesgo del consumo de tabaco en el embarazo temprano. *Rev Esp Salud Publica.* 2018;92:e201805029.
20. Candel RV, Soriano-Vidal FJ, Cucarella EH, Castro-Sánchez E, Martín-Moreno JM. Tobacco use in the third trimester of pregnancy and its relationship to birth weight. A prospective study in Spain. *Women Birth.* 2015;28(4):e134-e139.
<https://doi.org/10.1016/j.wombi.2015.06.003>
21. Observatorio Español sobre Drogas. Encuesta domiciliaria sobre alcohol y drogas en España” (EDADES) 2019/2020. Disponible en:
https://pnsd.sanidad.gob.es/profesionales/sistemasInformacion/sistemaInformacion/pdf/2019-20_Informe_EDADES.pdf [Consultada 12 Marzo 2021]
22. Martínez-Frías ML, Rodríguez-Pinilla E, Bermejo E, Grupo Periférico del ECEMC. Consumo de tabaco durante el embarazo en España: análisis por años, comunidades autónomas y características maternas. *Med Clin (Barc).* 2005;124(3):86-92.
<https://doi.org/10.1157/13070863>
23. Jiménez-Muro A, Samper MP, Marqueta A, Rodríguez G, Nerín I. Prevalencia de tabaquismo y exposición al humo ambiental de tabaco en las mujeres embarazadas: diferencias entre españolas e inmigrantes. *Gac Sanit.* 2012;26(2):138-144.
<https://doi.org/10.1016/j.gaceta.2011.07.015>
24. Cano Fernández J, Sánchez Bayle M, García G, Rabadan Sanz B, Yep Chullen G. Tabaquismo durante el embarazo en mujeres de la Comunidad de Madrid. *Prev Tabaquismo.* 2007:113-116.

25. Palma S, Pérez-Iglesias R, Pardo-Crespo R, Llorca J, Mariscal M, Delgado-Rodríguez M. Smoking among pregnant women in Cantabria (Spain): trend and determinants of smoking cessation. *BMC Public Health*. 2007;7(1):65. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-7-65>
26. Dirección Xeral de Saúde Pública, – DXSP. Conduta das mulleres e do Sistema Sanitario antes, durante e despois do embarazo: Galicia, 2016. Boletín epidemiolóxico de Galicia. 2018;XXX(1):1-11. Disponible en: <https://www.sergas.es/Saude-publica/Documents/4934/BEG%20XXX-1.pdf> [Consultado 22 Diciembre 2020]
27. Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates. Geneva: World Health Organization; 2017. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254610/WHO-MSD-MER-2017.2-eng.pdf> [Consultado 22 Diciembre 2020]
28. Cott AD, Wisner KL. Psychiatric disorders during pregnancy. *Int Rev Psychiatry*. 2003;15(3):217-230. <https://doi.org/10.1080/0954026031000136848>
29. Huybrechts KF, Palmsten K, Mogun H, Kowal M, Avorn J, Setoguchi-Iwata S, et al. National trends in antidepressant medication treatment among publicly insured pregnant women. *Gen Hosp Psychiatry*. 2013;35(3):265-271. <https://doi.org/10.1016/j.genhosppsy.2012.12.010>
30. Hanley GE, Mintzes B. Patterns of psychotropic medicine use in pregnancy in the United States from 2006 to 2011 among women with private insurance. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2014;14(1):242. <https://doi.org/10.1186/1471-2393-14-242>
31. Alwan S, Bérard A. Epidemiology of the Use of Psychotropic Drugs in Pregnant and Nursing Women. En: Uguz F, Orsolini L, editores. *Perinatal Psychopharmacology*. Switzerland: Springer; 2019. p. 3-16. https://doi.org/10.1007/978-3-319-92919-4_1
32. Marcus SM, Flynn HA, Blow FC, Barry KL. Depressive symptoms among pregnant women screened in obstetrics settings. *J Womens Health (Larchmt)*. 2003;12(4):373-380. <https://doi.org/10.1089/154099903765448880>

33. Bennett HA, Einarson A, Taddio A, Koren G, Einarson TR. Prevalence of depression during pregnancy: systematic review. *Obstet Gynecol.* 2004;103(4):698-709. <https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000116689.75396.5f>
34. Le Strat Y, Dubertret C, Le Foll B. Prevalence and correlates of major depressive episode in pregnant and postpartum women in the United States. *J Affect Disord.* 2011;135(1-3):128-138. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2011.07.004>
35. Rubertsson C, Hellström J, Cross M, Sydsjö G. Anxiety in early pregnancy: prevalence and contributing factors. *Arch Womens Ment Health.* 2014;17(3):221-228. <https://doi.org/10.1007/s00737-013-0409-0>
36. Fairbrother N, Janssen P, Antony MM, Tucker E, Young AH. Perinatal anxiety disorder prevalence and incidence. *J Affect Disord.* 2016;200:148-155. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2015.12.082>
37. Dennis C, Falah-Hassani K, Shiri R. Prevalence of antenatal and postnatal anxiety: systematic review and meta-analysis. *Br J Psychiatry.* 2017;210(5):315-323. <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.116.187179>
38. World Drug Report 2018. Booklet 5: Women and drugs. Drug use, drug supply and their consequences. (United Nations publication, Sales No. E.18.XI.9). Disponible en: https://www.unodc.org/wdr2018/prelaunch/WDR18_Booklet_5_WOMEN.pdf
[Consultado 22 Diciembre 2020]
39. Ramos E, Oraichi D, Rey E, Blais L, Berard A. Prevalence and predictors of antidepressant use in a cohort of pregnant women. *BJOG.* 2007;114(9):1055-1064. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2007.01387.x>
40. Berard A, Sheehy O. The Quebec Pregnancy Cohort—prevalence of medication use during gestation and pregnancy outcomes. *PLoS One.* 2014;9(4):e93870. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093870>
41. Andrade SE, Gurwitz JH, Davis RL, Chan KA, Finkelstein JA, Fortman K, et al. Prescription drug use in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;191(2):398-407. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2004.04.025>

42. Andrade SE, Raebel MA, Brown J, Lane K, Livingston J, Boudreau D, et al. Use of antidepressant medications during pregnancy: a multisite study. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;198(2):194. e1-194. e5.
<https://doi.org/10.1016/j.ajog.2007.07.036>
43. Alwan S, Reefhuis J, Rasmussen SA, Friedman JM, National Birth Defects Prevention Study. Patterns of antidepressant medication use among pregnant women in a United States population. *J Clin Pharmacol.* 2011;51(2):264-270.
<https://doi.org/10.1177/0091270010373928>
44. Ververs T, Kaasenbrood H, Visser G, Schobben F, de Jong-van den Berg, Lolkje, Egberts T. Prevalence and patterns of antidepressant drug use during pregnancy. *Eur J Clin Pharmacol.* 2006;62(10):863-870.
<https://doi.org/10.1007/s00228-006-0177-0>
45. Oyeboode F, Rastogi A, Berrisford G, Coccia F. Psychotropics in pregnancy: safety and other considerations. *Pharmacol Ther.* 2012;135(1):71-77.
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2012.03.008>
46. Marchetti F, Romero M, Bonati M, Tognoni G. Use of psychotropic drugs during pregnancy. A report of the international co-operative drug use in pregnancy (DUP) study. Collaborative Group on Drug Use in Pregnancy (CGDUP). *Eur J Clin Pharmacol.* 1993;45(6):495-501. <https://doi.org/10.1007/BF00315304>
47. Riska BS, Skurtveit S, Furu K, Engeland A, Handal M. Dispensing of benzodiazepines and benzodiazepine-related drugs to pregnant women: a population-based cohort study. *Eur J Clin Pharmacol.* 2014;70(11):1367-1374.
<https://doi.org/10.1007/s00228-014-1744-4>
48. UNODC. Early Warning Advisory on New Psychoactive Substances. 2020; Disponible en: <https://www.unodc.org/LSS/Page/NPS> [Consultado 22 Diciembre 2020]

49. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (2020), New psychoactive substances: global markets, global threats and the COVID-19 pandemic. An update from the EU Early Warning System (December 2020), Publications Office of the European Union, Luxembourg. Disponible en:
https://www.emcdda.europa.eu/system/files/publications/13464/20205648_TD03207_96ENN_PDF_rev.pdf [Consultado 22 Diciembre 2020]
50. Ala-Kokko TI, Myllynen P, Vähäkangas K. Ex vivo perfusion of the human placental cotyledon: implications for anesthetic pharmacology. *SIA Int. J. Obstet. Anesth.* 2000;9(1):26-38. <https://doi.org/10.1054/ijoa.1999.0312>
51. Ganapathy V. Drugs of abuse and human placenta. *Life Sci.* 2011;88(21-22):926-930. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2010.09.015>
52. Syme MR, Paxton JW, Keelan JA. Drug transfer and metabolism by the human placenta. *Clin Pharmacokinet.* 2004;43(8):487-514. <https://doi.org/10.2165/00003088-200443080-00001>
53. Acevedo Gallegos S, y Sosa SE, Gaona JMG, Torres BV, Marín LC, Huerta MEG. La placenta humana: Revisión. *Perinatol Reprod Hum.* 2008;22(3):230-245.
54. Sadler TW. *Embriología Médica de Langman*. 12th ed. Barcelona: Lippincott Williams And Wilkins. Wolters Kluwer; 2012. 454 p.
55. Morgan-Ortiz F, Morgan-Ruiz FV, Quevedo-Castro E, Gutierrez-Jimenez G, Báez-Barraza J. Anatomía y fisiología de la placenta y líquido amniótico. *Rev Med UAS.* 2015;5(4).
56. Palacín M, Herrera Castellón E, Lasunción MA. Transporte de metabolitos a través de la placenta. *Rev Esp Pediatr.* 1984;40(3):163-198
57. Ginsburg J. Placental drug transfer. *Annu Rev Pharmacol.* 1971;11(1):387-408. <https://doi.org/10.1146/annurev.pa.11.040171.002131>
58. Notake Y, Suzuki S. *Aspectos biológicos y clínicos del feto*. XII ed. Barcelona: Salvat; 1980.

59. Moya F, Thorndike V. Passage of drugs across the placenta. *Am J Obstet Gynecol.* 1962;84(11):1778-1798.
[https://doi.org/10.1016/0002-9378\(62\)90016-9](https://doi.org/10.1016/0002-9378(62)90016-9)
60. van der Aa, Eric M, Peereboom-Stegeman JHC, Noordhoek J, Gribnau FW, Russel FG. Mechanisms of drug transfer across the human placenta. *Pharm World Sci.* 1998;20(4):139-148. <https://doi.org/10.1023/a:1008656928861>
61. Olsen GD. Placental permeability for drugs of abuse and their metabolites. *NIDA Res Monogr.* 1995;154:152-162.
62. Gedeon C, Koren G. Designing pregnancy centered medications: drugs which do not cross the human placenta. *Placenta.* 2006;27(8):861-868.
<https://doi.org/10.1016/j.placenta.2005.09.001>
63. Mihaly GW, Morgan DJ. Placental drug transfer: effects of gestational age and species. *Pharmacol Ther.* 1983;23(2):253-266. [https://doi.org/10.1016/0163-7258\(83\)90015-3](https://doi.org/10.1016/0163-7258(83)90015-3)
64. Kuczkowski KM. Anesthetic implications of drug abuse in pregnancy. *J Clin Anesth.* 2003;15(5):382-394. [https://doi.org/10.1016/S0952-8180\(03\)00056-4](https://doi.org/10.1016/S0952-8180(03)00056-4)
65. Pinto SM, Dodd S, Walkinshaw SA, Siney C, Kakkar P, Mousa HA. Substance abuse during pregnancy: effect on pregnancy outcomes. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2010;150(2):137-141.
<https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2010.02.026>
66. Hepburn M. Drug misuse in pregnancy. *Curr Obstet Gynaecol.* 1993;3(1):54-58.
[https://doi.org/10.1016/0957-5847\(93\)90063-U](https://doi.org/10.1016/0957-5847(93)90063-U)
67. Kuczkowski KM. The effects of drug abuse on pregnancy *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2007;19(6):578-585. <https://doi.org/10.1097/GCO.0b013e3282f1bf17>
68. Shankaran S, Lester BM, Das A, Bauer CR, Bada HS, Lagasse L, Higgins R. Impact of maternal substance use during pregnancy on childhood outcome. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2007;12(2):143-150
<https://doi.org/10.1016/j.siny.2007.01.002>
69. Keegan J, Parva M, Finnegan M, Gerson A, Belden M. Addiction in pregnancy. *J Addict Dis.* 2010;29(2):175-191. <https://doi.org/10.1080/10550881003684723>

70. Johnson K, Gerada C, Greenough A. Substance misuse during pregnancy. *Br J Psychiatry*. 2003;183(3):187-189. <https://doi.org/10.1192/bjp.183.3.187>
71. Ko T, Tsai L, Chu L, Yeh S, Leung C, Chen C, et al. Parental smoking during pregnancy and its association with low birth weight, small for gestational age, and preterm birth offspring: a birth cohort study. *Pediatr Neonatol*. 2014;55(1):20-27. <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2013.05.005>
72. Harju M, Keski-Nisula L, Georgiadis L, Heinonen S. Parental smoking and cessation during pregnancy and the risk of childhood asthma. *BMC Public Health*. 2016;16(1):428. <https://doi.org/10.1186/s12889-016-3029-6>
73. Ion R, Bernal AL. Smoking and preterm birth. *Reprod Sci*. 2015;22(8):918-926. <https://doi.org/10.1177/1933719114556486>
74. Banderali G, Martelli A, Landi M, Moretti F, Betti F, Radaelli G, et al. Short and long term health effects of parental tobacco smoking during pregnancy and lactation: a descriptive review. *J Transl Med*. 2015;13(1):1-7. <https://doi.org/10.1186/s12967-015-0690-y>
75. Cnattingius S. The epidemiology of smoking during pregnancy: smoking prevalence, maternal characteristics, and pregnancy outcomes. *Nicotine Tob Res*. 2004;6(Suppl_2):S125-S140. <https://doi.org/10.1080/14622200410001669187>
76. Andres RL, Day MC. Perinatal complications associated with maternal tobacco use. *Semin Neonatol*. 2000;5(3):231-241. <https://doi.org/10.1053/siny.2000.0025>
77. Engel SM, Janevic TM, Stein CR, Savitz DA. Maternal smoking, preeclampsia, and infant health outcomes in New York City, 1995–2003. *Am J Epidemiol*. 2009;169(1):33-40. <https://doi.org/10.1093/aje/kwn293>
78. Castles A, Adams EK, Melvin CL, Kelsch C, Boulton ML. Effects of smoking during pregnancy: five meta-analyses. *Am J Prev Med*. 1999;16(3):208-215. [https://doi.org/10.1016/S0749-3797\(98\)00089-0](https://doi.org/10.1016/S0749-3797(98)00089-0)
79. Sastry BV. Placental toxicology: tobacco smoke, abused drugs, multiple chemical interactions, and placental function. *Reprod Fertil Dev*. 1991;3(4):355-372. <https://doi.org/10.1071/rd9910355>

80. Jaddoe VW, Verburg BO, De Ridder M, Hofman A, Mackenbach JP, Moll HA, et al. Maternal smoking and fetal growth characteristics in different periods of pregnancy: the generation R study. *Am J Epidemiol*. 2007;165(10):1207-1215.
<https://doi.org/10.1093/aje/kwm014>
81. Ernst M, Moolchan ET, Robinson ML. Behavioral and neural consequences of prenatal exposure to nicotine. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2001;40(6):630-641. <https://doi.org/10.1097/00004583-200106000-00007>
82. Meyer MB, Tonascia JA. Maternal smoking, pregnancy complications, and perinatal mortality. *Am J Obstet Gynecol*. 1977;128(5):494-502.
[https://doi.org/10.1016/0002-9378\(77\)90031-x](https://doi.org/10.1016/0002-9378(77)90031-x)
83. Choo RE, Huestis MA, Schroeder JR, Shin AS, Jones HE. Neonatal abstinence syndrome in methadone-exposed infants is altered by level of prenatal tobacco exposure. *Drug Alcohol Depend*. 2004;75(3):253-260.
<https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2004.03.012>
84. Buka SL, Shenassa ED, Niaura R. Elevated risk of tobacco dependence among offspring of mothers who smoked during pregnancy: a 30-year prospective study. *Am J Psychiatry*. 2003;160(11):1978-1984.
<https://doi.org/10.1176/appi.ajp.160.11.1978>
85. Dong T, Hu W, Zhou X, Lin H, Lan L, Hang B, et al. Prenatal exposure to maternal smoking during pregnancy and attention-deficit/hyperactivity disorder in offspring: A meta-analysis. *Reprod Toxicol*. 2018;76:63-70.
<https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2017.12.010>
86. Robinson GE. Controversies about the use of antidepressants in pregnancy. *J Nerv Ment Dis*. 2015;203(3):159-163.
<https://doi.org/10.1097/NMD.0000000000000256>
87. Pedersen LH. The safety of antidepressants in pregnancy. *The BMJ*. 2017; 357:j2544
<https://doi.org/10.1136/bmj.j2544>

88. Ornoy A, Weinstein-Fudim L, Ergaz Z. Antidepressants, antipsychotics, and mood stabilizers in pregnancy: what do we know and how should we treat pregnant women with depression. *Birth Defects Res.* 2017;109(12):933-956. <https://doi.org/10.1002/bdr2.1079>
89. Wikner BN, Stiller C, Bergman U, Asker C, Källén B. Use of benzodiazepines and benzodiazepine receptor agonists during pregnancy: neonatal outcome and congenital malformations. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2007;16(11):1203-1210. <https://doi.org/10.1002/pds.1457>
90. Sheehy O, Zhao J, Bérard A. Association between incident exposure to benzodiazepines in early pregnancy and risk of spontaneous abortion. *JAMA psychiatry* 2019;76(9):948-957. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2019.0963>
91. Källén B. Neonate characteristics after maternal use of antidepressants in late pregnancy. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2004;158(4):312-316. <https://doi.org/10.1001/archpedi.158.4.312>
92. Udechuku A, Nguyen T, Hill R, Szego K. Antidepressants in pregnancy: a systematic review. *Aust N Z J Psychiatry.* 2010;44(11):978-996. <https://doi.org/10.3109/00048674.2010.507543>
93. Nakhai-Pour HR, Broy P, Bérard A. Use of antidepressants during pregnancy and the risk of spontaneous abortion. *CMAJ.* 2010;182(10):1031-1037. <https://doi.org/10.1503/cmaj.091208>
94. Malo P, Prieto M, Oraá R, Zardoya MJ, Uriarte JJ, Medrano J, et al. Uso de antidepressivos durante el embarazo y la lactancia. *Psiquiatría Biológica.* 2018;25(1):20-25. <https://doi.org/10.1016/j.psiq.2018.02.002>
95. Ericson A, Källén B, Wiholm B. Delivery outcome after the use of antidepressants in early pregnancy. *Eur J Clin Pharmacol.* 1999;55(7):503-508. <https://doi.org/10.1007/s002280050664>

96. Gentile S. On categorizing gestational, birth, and neonatal complications following late pregnancy exposure to antidepressants: the prenatal antidepressant exposure syndrome. *CNS Spectr.* 2010;15(3):167-185.
<https://doi.org/10.1017/s1092852900027449>
97. Białkowiec-Iskra E, Mirowska-Guzel DM, Wielgoś M. Effect of antidepressants use in pregnancy on foetus development and adverse effects in newborns. *Ginekol Pol.* 2017;88(1):36-42. <https://doi.org/10.5603/GP.a2017.0007>
98. Katzman MA, Bleau P, Blier P, Chokka P, Kjernisted K, Van Ameringen M, et al. Canadian clinical practice guidelines for the management of anxiety, posttraumatic stress and obsessive-compulsive disorders. *BMC Psychiatry.* 2014;14(S1):S1.
<https://doi.org/10.1186/1471-244X-14-S1-S1>
99. Shyken JM, Babbar S, Babbar S, Forinash A. Benzodiazepines in pregnancy. *Clin Obstet Gynecol.* 2019;62(1):156-167.
<https://doi.org/10.1097/GRF.0000000000000417>
100. Iqbal MM, Sobhan T, Ryals T. Effects of commonly used benzodiazepines on the fetus, the neonate, and the nursing infant. *Psychiatr Serv.* 2002;53(1):39-49.
<https://doi.org/10.1176/appi.ps.53.1.39>
101. Bais B, Molenaar NM, Bijma HH, Hoogendijk WJ, Mulder CL, Luik AI, et al. Prevalence of benzodiazepines and benzodiazepine-related drugs exposure before, during and after pregnancy: a systematic review and meta-analysis. *J Affect Disord.* 2020;269:18-27 <https://doi.org/10.1016/j.jad.2020.03.014>
102. Dolovich LR, Addis A, Vaillancourt JR, Power JB, Koren G, Einarson TR. Benzodiazepine use in pregnancy and major malformations or oral cleft: meta-analysis of cohort and case-control studies. *BMJ.* 1998;317(7162):839-843.
<https://doi.org/10.1136/bmj.317.7162.839>
103. Bellantuono C, Tofani S, Di Sciascio G, Santone G. Benzodiazepine exposure in pregnancy and risk of major malformations: a critical overview. *Gen Hosp Psychiatry.* 2013;35(1):3-8.
<https://doi.org/10.1016/j.genhosppsy.2012.09.003>

104. Prieto M, Oraá R, Zardoya MJ, Uriarte JJ, Malo P, Medrano J, et al. Uso de ansiolíticos e hipnóticos durante el embarazo y la lactancia. *Psiquiatría Biológica*. 2018;25(1):7-11. <https://doi.org/10.1016/j.psiq.2018.01.004>
105. Kocherlakota P. Neonatal abstinence syndrome. *Pediatrics*. 2014;134(2):e547-e561. <https://doi.org/10.1542/peds.2013-3524>
106. Jansson LM, Patrick SW. Neonatal abstinence syndrome. *Pediatr Clin North Am*. 2019;66(2):353. <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2018.12.006>
107. Jansson LM, Velez M. Neonatal abstinence syndrome. *Curr Opin Pediatr*. 2012;24(2):252-258. <https://doi.org/10.1097/MOP.0b013e32834fdc3a>
108. Hill SL, Dargan PI. Patterns of acute toxicity associated with new psychoactive substances. *Handb Exp Pharmacol*. 2018;252:475-494. https://doi.org/10.1007/164_2018_135
109. Chomchai S, Phudithinnapatra J, Mekavuthikul P, Chomchai C. Effects of unconventional recreational drug use in pregnancy. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2019;24(2):142-148. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2019.01.010>
110. Gray BA, Holland C. Implications of psychoactive ‘bath salts’ use during pregnancy. *Nurs Womens Health*. 2014;18(3):220-230. <https://doi.org/10.1111/1751-486X.12123>
111. Abdel-Aleem MA. Khat Chewing During Pregnancy: an Insight on an Ancient Problem Impact of Chewing Khat on Maternal and Fetal Outcome among Yemeni Pregnant Women. *J Gynecol Neonatal Biol* .2015;1(2):1-4. <http://doi.org/10.15436/2380-5595.15.004>
112. Smid MC, Metz TD, Gordon AJ. Stimulant use in pregnancy: an under-recognized epidemic among pregnant women. *Clin Obstet Gynecol*. 2019;62(1):168-184. <https://doi.org/10.1097/GRF.0000000000000418>
113. Armenian P, Vo KT, Barr-Walker J, Lynch KL. Fentanyl, fentanyl analogs and novel synthetic opioids: a comprehensive review. *Neuropharmacology*. 2018;134:121-132. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.10.016>
114. Haycraft AL. Pregnancy and the opioid epidemic. *J Psychosoc Nurs Ment Health Serv*. 2018;56(3):19-23. <https://doi.org/10.3928/02793695-20180219-03>

115. Krans EE, Patrick SW. Opioid use disorder in pregnancy: health policy and practice in the midst of an epidemic. *Obstet Gynecol.* 2016;128(1):4.
<https://www.doi.org/10.1097/AOG.0000000000001446>
116. Garg M, Garrison L, Leeman L, Hamidovic A, Borrego M, Rayburn WF, et al. Validity of self-reported drug use information among pregnant women. *Matern Child Health J.* 2016;20(1):41-47.
<https://www.doi.org/10.1007/s10995-015-1799-6>
117. Ford RP, Tappin DM, Schluter PJ, Wild CJ. Smoking during pregnancy: how reliable are maternal self reports in New Zealand? *J Epidemiol Community Health.* 1997;51(3):246-251. <https://www.doi.org/10.1136/jech.51.3.246>
118. Lange S, Shield K, Koren G, Rehm J, Popova S. A comparison of the prevalence of prenatal alcohol exposure obtained via maternal self-reports versus meconium testing: a systematic literature review and meta-analysis. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2014;14(1):127. <https://www.doi.org/10.1186/1471-2393-14-127>
119. García-Serra J, Ramis J, Simó S, Joya X, Pichini S, Vall O, et al. Matrices biológicas alternativas para detectar la exposición prenatal a drogas de abuso en el tercer trimestre de la gestación. *An Pediatr (Barc).* 2012; 77(5):323-328.
<https://www.doi.org/10.1016/j.anpedi.2012.02.019>
120. Ostrea Jr EM, Knapp DK, Tannenbaum L, Ostrea AR, Romero A, Salari V, et al. Estimates of illicit drug use during pregnancy by maternal interview, hair analysis, and meconium analysis. *J Pediatr.* 2001;138(3):344-348.
<https://doi.org/10.1067/mpd.2001.111429>
121. Eyler FD, Behnke M, Wobie K, Garvan CW, Tebbett I. Relative ability of biologic specimens and interviews to detect prenatal cocaine use. *Neurotoxicol Teratol.* 2005;27(4):677-687. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2005.04.001>
122. Lester BM, ElSohly M, Wright LL, Smeriglio VL, Verter J, Bauer CR, et al. The Maternal Lifestyle Study: drug use by meconium toxicology and maternal self-report. *Pediatrics.* 2001;107(2):309-317.
<https://doi.org/10.1542/peds.107.2.309>

123. Wabuye SL, Colby JM, McMillin GA. Detection of drug-exposed newborns. *Ther Drug Monit.* 2018;40(2):166-185.
<https://doi.org/10.1097/FTD.0000000000000485>
124. Manich A, Velasco M, Joya X, García-Lara NR, Pichini S, Vall O, et al. Validez del cuestionario de consumo materno de alcohol para detectar la exposición prenatal. *An Pediatr (Barc).* 2012;76(6):324-328.
<https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2011.09.016>
125. Gray T, Huestis M. Bioanalytical procedures for monitoring in utero drug exposure. *Anal Bioanal Chem.* 2007;388(7):1455-1465.
<https://doi.org/10.1007/s00216-007-1228-9>
126. Lozano J, García-Algar O, Vall O, de la Torre R, Scaravelli G, Pichini S. Biological matrices for the evaluation of in utero exposure to drugs of abuse. *Ther Drug Monit.* 2007;29(6):711-734.
<https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e31815c14ce>
127. Cotten SW. Drug testing in the neonate. *Clin Lab Med.* 2012;32(3):449-466.
<https://doi.org/10.1016/j.cll.2012.06.008>
128. Concheiro-Guisan A, Concheiro M. Bioanalysis during pregnancy: recent advances and novel sampling strategies. *Bioanalysis.* 2014;6(23):3133-3153.
<https://doi.org/10.4155/bio.14.278>
129. Concheiro M, Huestis MA. Drug exposure during pregnancy: analytical methods and toxicological findings. *Bioanalysis.* 2018;10(8):587-606.
<https://doi.org/10.4155/bio-2017-0260>
130. Gareri J, Klein J, Koren G. Drugs of abuse testing in meconium. *Clin Chim Acta.* 2006;366(1-2):101-111. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2005.10.028>
131. Levine B, Kerrigan S. *Principles of forensic toxicology.* 5th ed. Switzerland: Springer; 2020.
132. McMillin GA, Wood KE, Strathmann FG, Krasowski MD. Patterns of drugs and drug metabolites observed in meconium: what do they mean? *Ther Drug Monit.* 2015;37(5):568-580. <https://doi.org/10.1097/FTD.0000000000000181>

133. Jiménez M, Repetto Kuhn G. Toxicología Fundamental. 4ª Edición. Sevilla, España: Ed. Díaz de Santos S.A.; 2009.
134. Ostrea EM, Knapp DK, Romero A, Montes M, Ostrea AR. Meconium analysis to assess fetal exposure to nicotine by active and passive maternal smoking. *J Pediatr*. 1994;124(3):471-476. [https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(94\)70378-7](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(94)70378-7)
135. Baranowski J, Pochopień G, Baranowska I. Determination of nicotine, cotinine and caffeine in meconium using high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*. 1998;707(1):317-321. [https://doi.org/10.1016/s0378-4347\(97\)00619-1](https://doi.org/10.1016/s0378-4347(97)00619-1)
136. Dempsey D, Moore C, Deitermann D, Lewis D, Feeley B, Niedbala RS. The detection of cotinine in hydrolyzed meconium samples. *Forensic Sci Int*. 1999;102(2-3):167-171. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(99\)00052-3](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(99)00052-3)
137. Derauf C, Katz AR, Easa D. Agreement between maternal self-reported ethanol intake and tobacco use during pregnancy and meconium assays for fatty acid ethyl esters and cotinine. *Am J Epidemiol*. 2003;158(7):705-709. <https://doi.org/10.1093/aje/kwg215>
138. Sherif NA, Kamel SM, Al Ashkar OS, Sharaki OA, Seif EA, Hegazy EA. Detection of cotinine in neonate meconium as a marker for nicotine exposure in utero. *East Mediterr Health J*. 2004;10 (1-2), 96-105.
139. Köhler E, Avenarius S, Rabsilber A, Gerloff C, Jorch G. Assessment of prenatal tobacco smoke exposure by determining nicotine and its metabolites in meconium. *Hum Exp Toxicol*. 2007;26(6):535-544. <https://doi.org/10.1177/0960327107072391>
140. Gray TR, Shakleya DM, Huestis MA. Quantification of nicotine, cotinine, trans-3'-hydroxycotinine, nornicotine and norcotinine in human meconium by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2008;863(1):107-114. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2008.01.001>

141. Gray TR, Shakleya DM, Huestis MA. A liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the simultaneous quantification of 20 drugs of abuse and metabolites in human meconium. *Anal Bioanal Chem.* 2009;393(8):1977. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-2680-5>
142. Braun JM, Daniels JL, Poole C, Olshan AF, Hornung R, Bernert JT, et al. A prospective cohort study of biomarkers of prenatal tobacco smoke exposure: the correlation between serum and meconium and their association with infant birth weight. *Environ Health.* 2010;9(1):1-11. <https://doi.org/10.1186/1476-069X-9-53>
143. Marin SJ, Christensen RD, Baer VL, Clark CJ, McMillin GA. Nicotine and metabolites in paired umbilical cord tissue and meconium specimens. *Ther Drug Monit.* 2011;33(1):80-85. <https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e3182055f14>
144. Xia Y, Xu M, Alexander RR, Bernert JT. Measurement of nicotine, cotinine and trans-3'-hydroxycotinine in meconium by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2011;879(22):2142-2148. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.05.054>
145. Sant'Anna SG, Oliveira CDR, Diniz, Edna Maria de Albuquerque, Yonamine M. Accelerated Solvent Extraction for Gas Chromatographic Analysis of Nicotine and Cotinine in Meconium Samples. *J Anal Toxicol.* 2012;36(1):19-24. <https://doi.org/10.1093/jat/bkr011>
146. Mozaner Bordin DC, Alves MN, Cabrices OG, de Campos EG, De Martinis BS. A rapid assay for the simultaneous determination of nicotine, cocaine and metabolites in meconium using disposable pipette extraction and gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS). *J Anal Toxicol.* 2014;38(1):31-38. <https://doi.org/10.1093/jat/bkt092>
147. Ostrea Jr EM, Matias O, Keane C, Mac E, Utarnachitt R, Ostrea A, et al. Spectrum of gestational exposure to illicit drugs and other xenobiotic agents in newborn infants by meconium analysis. *J Pediatr.* 1998;133(4):513-515. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(98\)70059-9](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(98)70059-9)

148. Bar-Oz B, Klein J, Karaskov T, Koren G. Comparison of meconium and neonatal hair analysis for detection of gestational exposure to drugs of abuse. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2003;88(2):F98-F100. <http://doi.org/10.1136/fn.88.2.F98>
149. García-Algar Ó, López-Vílchez MÁ, Martín I, Mur A, Pellegrini M, Pacifici R, et al. Confirmation of gestational exposure to alprazolam by analysis of biological matrices in a newborn with neonatal sepsis. *Clin Toxicol (Phila).* 2007;45(3):295-298. <https://doi.org/10.1080/15563650601072191>
150. Marin SJ, Coles R, Merrell M, McMillin GA. Quantitation of benzodiazepines in urine, serum, plasma, and meconium by LC-MS-MS. *J Anal Toxicol.* 2008;32(7):491-498. <https://doi.org/10.1093/jat/32.7.491>
151. Pichini S, Cortes L, Marchei E, Solimini R, Pacifici R, Gomez-Roig MD, et al. Ultra-high-pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry determination of antidepressant and anxiolytic drugs in neonatal meconium and maternal hair. *J Pharm Biomed Anal.* 2016;118:9-16. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.10.016>
152. Pichini S, Rotolo MC, García J, Girona N, Leal L, García-Algar O, et al. Neonatal withdrawal syndrome after chronic maternal consumption of 4-methylethcathinone. *Forensic Sci Int.* 2014;245:e33-e35. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2014.10.027>
153. Nemeškalová A, Bursová M, Sýkora D, Kuchař M, Čabala R, Hložek T. Salting out assisted liquid-liquid extraction for liquid chromatography tandem-mass spectrometry determination of amphetamine-like stimulants in meconium. *J Pharm Biomed Anal.* 2019;172:42-49. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.04.036>



2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. HIPÓTESIS

El consumo de drogas y/o sustancias de abuso es una práctica común en nuestra sociedad, que afecta a hombres y mujeres. Este consumo puede tener lugar en cualquier etapa de la vida, pero las estadísticas indican que es en el periodo que coincide con la edad fértil del individuo donde se produce el mayor consumo. En el caso de las mujeres el mayor consumo se produce entre los 15 y los 44 años, y si dicho consumo se produce durante el embarazo puede originar graves complicaciones, tanto para el desarrollo del propio embarazo (complicaciones obstétricas) como para el desarrollo fetal, neonatal e, incluso, en las etapas posteriores de la vida. Por ello es necesario disponer de métodos adecuados para la detección de la exposición intraútero a sustancias de abuso. Por una parte, la detección precoz en las primeras etapas de embarazo permitiría establecer medidas de prevención de la exposición; por otra, la detección precoz postparto de los neonatos expuestos permitiría instaurar con la mayor brevedad posible el tratamiento más adecuado, lo que contribuiría en gran medida a disminuir las posibles secuelas en estos pacientes.

La detección del consumo de sustancias durante el embarazo se puede realizar con métodos subjetivos (entrevista materna) o con métodos objetivos (detección de biomarcadores de consumo en muestras biológicas). El método más frecuentemente empleado para documentar el consumo de drogas y/o sustancias de abuso durante el embarazo es la entrevista materna, ya que es el más fácilmente accesible en el ámbito sanitario. Este método presenta como principal desventaja su baja fiabilidad debido, principalmente, al temor de las madres a repercusiones judiciales y sociales si confiesan sus problemas de adicción, sobre todo cuando se trata de drogas ilegales. Los métodos objetivos para detectar el consumo de drogas durante el embarazo son más fiables y se basan en la aplicación de métodos analíticos de elevada sensibilidad a diferentes biomarcadores presentes en muestras biológicas de la madre y/o del neonato.

Las principales matrices que se emplean en la identificación de la exposición intraútero a drogas son la orina y el pelo (tanto maternos como neonatales), el meconio, la placenta y el cordón umbilical. Cada matriz tiene ventajas e inconvenientes, dependiendo de la facilidad de obtención de la muestra, las diferentes ventanas de detección, y la sensibilidad y especificidad de la misma. En la actualidad el meconio es considerado la matriz de referencia en la identificación del consumo de drogas durante el embarazo. Su análisis permite la detección de la exposición fetal directa a las drogas consumidas en el segundo y, más probablemente, en el tercer trimestre de embarazo, y su uso en el análisis toxicológico está prácticamente estandarizado.

Esta Tesis Doctoral profundizará en el estudio de la utilidad del meconio como matriz biológica para la detección de la exposición intraútero a tabaco, psicofármacos (antidepresivos y benzodiacepinas) y Nuevas Sustancias de Psicoactivas (NPS). A pesar de que ya se publicaron numerosas metodologías para la detección de las principales drogas de abuso en esta matriz, esta Tesis aporta aspectos novedosos, en dos direcciones: relacionados con la metodología desarrollada (en lo referente a los psicofármacos y a las NPS, las metodologías en meconio son muy escasas) o con la casuística real aportada (para el tabaco, aunque ya hay bastante metodología publicada, este sería el primer estudio con un número tan elevado de muestras reales).

2.2. OBJETIVOS

Teniendo en cuenta lo anteriormente mencionado, los objetivos de esta Tesis Doctoral son:

2.2.1. Objetivo General

El principal objetivo de esta Tesis Doctoral es el de evaluar la utilidad del análisis del meconio como muestra biológica de referencia para la identificación de la exposición prenatal a drogas y/o sustancias de abuso. Asimismo, se valorará su utilidad en el estudio de los posibles efectos que producen sobre el neonato el consumo durante el embarazo de las sustancias analizadas.

2.2.2. Objetivos Específicos

- a. Desarrollar y validar una nueva metodología analítica, sensible y específica, basada en técnicas LC-MS/MS, para el análisis de las sustancias objeto de esta Tesis en meconio: Nicotina y sus principales metabolitos (cotinina y hidroxicotinina), los principales fármacos antidepresivos y benzodiazepinas comercializados en nuestro país y algunas de las NPS más consumidas en nuestro país, concretamente las catinonas sintéticas.
- b. Estudiar la utilidad clínica de dichas metodologías, comprobando su capacidad para detectar las sustancias objeto de estudio en muestras reales de meconio procedentes de embarazadas potencialmente expuestas a drogas y fármacos de abuso durante el embarazo.
- c. Comparar los resultados obtenidos en el análisis de meconio con los observados en los indicadores más comúnmente usados para detectar la exposición intraútero a sustancias: las entrevistas maternas y en el análisis de pelo materno.
- d. Evaluar la correlación entre los resultados en meconio y la posible afectación de los principales parámetros antropométricos (longitud, peso, perímetro craneal) y de la puntuación en el test de Apgar del neonato.

Estos objetivos se han abordado en las cuatro publicaciones que constituyen esta Tesis

Doctoral:

- “López-Rabuñal A, Lendoiro E, González-Colmenero E, Concheiro-Guisán A, Concheiro-Guisán M, Peñas-Silva P, Macias-Cortiña M, López-Rivadulla M, Cruz A, de-Castro-Ríos A. *Assessment of Tobacco Exposure During Pregnancy by Meconium Analysis and Maternal Interview. J Anal Toxicol. 2020;44 (8):797-802*”. Objetivos a, b, c y d.
- “López-Rabuñal A, Lendoiro E, Concheiro M, López-Rivadulla M, Cruz A, de-Castro-Ríos A. *LC–MS-MS Method for the Determination of Antidepressants and Benzodiazepines in Meconium. J Anal Toxicol. 2020;44 (6):580–588.*”. Objetivos a y b.
- “López-Rabuñal A, Lendoiro E, Concheiro-Guisán M, González-Colmenero E, Peñas-Silva P, Concheiro-Guisán A, Macias-Cortiña M, López-Rivadulla M, de-Castro-Ríos A, Cruz A. *Meconium and maternal hair analysis vs. medical records to monitor antidepressants and benzodiazepines exposure during pregnancy. Forensic Toxicol. 2021*”. Objetivos b, c y d.
- “López-Rabuñal A, Lendoiro E, Concheiro M, López-Rivadulla M, Cruz A, de-Castro-Ríos A. *A LC-MS/MS method for the determination of common synthetic cathinones in meconium. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2019;1124:349-355*”. Objetivo a.

3. HERRAMIENTAS METODOLÓGICAS EMPLEADAS

Esta Tesis doctoral se centra en el estudio del meconio como matriz biológica para la detección de la exposición prenatal a los siguientes psicofármacos y sustancias de abuso:

- Los principales **fármacos antidepresivos y benzodiacepinas** comercializados en nuestro país, específicamente:
 - 15 antidepresivos y sus metabolitos (amitriptilina, clomipramina, norclomipramina, citalopram, desmetilcitalopram, imipramina, desipramina, fluoxetina, norfluoxetina, nortriptilina, paroxetina, sertralina, norsestralina, venlafaxina y desmetilvenlafaxina).
 - 14 benzodiacepinas y sus metabolitos (alprazolam, alfa-OH-alprazolam, bromazepam, clonazepam, diazepam, nordiazepam, flunitrazepam, 7-aminoflunitrazepam, lorazepam, lormetazepam, midazolam, oxazepam y triazolam) y zolpidem.
- **Tabaco**, específicamente uno de sus principales componentes, la nicotina, y sus metabolitos (cotinina y trans-3'-hidroxicotinina).
- Las **Nuevas Sustancias Psicoactivas (NPS)**, concretamente las catinonas sintéticas (metilona, mefedrona, mecedrona, 3,4-metilendioxirovalerona (MDPV), 4-fluorometanfetamina y 4-fluorometcatinona).

En este apartado se resumen los principales materiales y herramientas metodológicas empleadas en la misma, y en el capítulo referente a cada uno de los Trabajos Publicados se describirán más en detalle los métodos analíticos utilizados en cada uno de ellos.

3.1. MATERIALES

- Material de laboratorio: se han empleado los reactivos, disolventes y demás equipamiento de laboratorio propio de un laboratorio de Toxicología Analítica actual. Alguna de la instrumentación usada en el tratamiento de las muestras biológicas fue:
 - Balanza analítica digital LE244S (Sartorius AG, Goettingen, Alemania).
 - Baño de ultrasonidos F721032 (Fungilab, Sant Feliu de Llobregat, España).
 - Centrífuga 5804R (Eppendorf, Hamburgo, Alemania).
 - Cartuchos de extracción en fase sólida Oasis MCX 3 cc 60 mg (Waters Corp., Mildford, MA, USA).
 - Evaporador TurboVap® Zymark (Biotage AB, Suecia).
 - Centrífuga Minispin (Eppendorf, Hamburgo, Alemania).
- Muestras biológicas: las muestras biológicas empleadas fueron muestras de meconio obtenidas durante los años 2012 y 2015 en el desarrollo de un estudio clínico realizado en colaboración con el Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela y el Complejo Hospitalario Universitario de Vigo. El proyecto contó con la aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia (Código 2011/203 – Anexo 4) y del Comité de Bioética de la Universidad de Santiago de Compostela (Anexo 5). Junto con estas muestras biológicas se recogió pelo materno e información relativa a la madre y el neonato:
 - Características sociodemográficas de la madre (edad, nivel educativo, trabajo y estado civil) e información sobre el uso de psicofármacos y sustancias de abuso durante el embarazo (tabaco, alcohol, cannabis, cocaína, heroína, metadona, benzodiazepinas, antidepresivos...). Esta información se obtuvo mediante una entrevista realizada por el clínico después del parto.
 - Información clínica de los neonatos: longitud, peso y perímetro craneal al nacer, edad gestacional y puntuación en el test de Apgar, entre otros. Estos datos se obtuvieron de la historia clínica del paciente.
- Equipo analítico: el equipo de Cromatografía de Líquidos acoplada a Espectrometría de Masas en Tándem (LC-MS/MS) usado en el desarrollo de los métodos analíticos de esta Tesis Doctoral estaba compuesto de un Cromatógrafo Alliance 2795 Separation Module (Waters Corp., Mildford, MA, USA) y un Espectrómetro de masas-masas de triple cuadrupolo Micromass Quattro Micro™ API (Waters Corp., Mildford, MA, USA). Para

el control del LC-MS/MS se usó el software MassLynx (versión 4.1 SCN627), que contiene el software QuanLynx (versión 4.1 SCN627) empleado para el procesado de los resultados.

- Análisis estadístico: se empleó el software SPSS (version 24.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

3.2. MÉTODOS

La metodología aplicada en los trabajos incluidos en esta Tesis consta, básicamente, de los elementos comunes mencionados a continuación.

3.2.1. Tratamiento de la muestra

Como ya se mencionó en el Capítulo 1 de esta Tesis Doctoral, el meconio es una matriz biológica compleja que necesita ser sometida a procesos de homogenización y extracción antes de ser analizada. Para el desarrollo de los métodos analíticos descritos en esta Tesis Doctoral se evaluaron distintos procesos de homogenización y extracción de las muestras a fin de conseguir la máxima recuperación de los analitos y el mínimo efecto matriz.

El primer paso en el análisis del meconio es la homogenización de la muestra. En los métodos analíticos desarrollados en esta Tesis Doctoral la homogenización se realizó mediante la sonicación del meconio con un solvente (normalmente metanol) y su posterior centrifugación. El siguiente paso es la preparación de la muestra para su análisis es la extracción. El método de extracción de elección fue la extracción en fase sólida (SPE, por sus siglas en inglés). Consiste en hacer pasar un líquido (muestra) por una fase sólida (cartucho) a fin de que los analitos contenidos en la matriz biológica sean retenidos inicialmente por el cartucho. Para aumentar la afinidad de los analitos por la fase sólida suele ser necesario acondicionar previamente la muestra a un pH adecuado, que dependerá del carácter ácido o básico de los compuestos y del relleno del cartucho empleado para realizar la SPE. La SPE suele constar de 4 etapas [1,2]:

- Acondicionamiento del cartucho, para activar el adsorbente y que así pueda retener a los analitos de interés.
- Carga de la muestra.

- Lavados, empleando distintos disolventes que eliminan compuestos endógenos presentes en la muestra y que pueden interferir en la detección de los analitos de interés.
- Elución de la muestra, se hace pasar por el cartucho un solvente que libera a los analitos de su interacción con el adsorbente.

3.2.2. Análisis instrumental

3.2.2.1. Desarrollo de la metodología analítica específica

El análisis de las muestras se llevó a cabo mediante la técnica de LC-MS/MS, el cual requiere, inicialmente, el estudio de las transiciones MRM características para cada uno de los analitos incluidos en la metodología, es decir, el estudio de la relación masa/carga (m/z) del analito, que es seleccionado en el primer cuadrupolo, y de los fragmentos (m/z) característicos en los que se descompone al aplicarle, posteriormente, un determinado voltaje. De esta manera, se escogen las dos combinaciones ion precursor > ion producto (transiciones MRM) que mejor caracterizan al compuesto de interés. Posteriormente, para cada uno de los métodos analíticos descritos en esta Tesis, se ensayaron distintas columnas analíticas y fases móviles hasta encontrar la ideal para la separación cromatográfica de los distintos analitos en cada caso. Todas las metodologías analíticas desarrolladas durante la Tesis Doctoral fueron completamente validadas siguiendo las directrices de la *Scientific Working Group for Forensic Toxicology* (SWGTOX) [3].

3.2.2.2. Análisis de los casos reales

Los casos reales han sido procesados con las distintas metodologías previamente desarrolladas, y una vez obtenidos los resultados analíticos se procedió al análisis estadístico de los resultados. Se estudió la concordancia entre los resultados en las muestras de meconio con los procedentes de la entrevista materna y/o pelo materno para así evaluar la utilidad del meconio en la detección de la exposición intraútero a psicofármacos y sustancias de abuso. Asimismo, se estudiaron las posibles correlaciones entre la exposición intraútero a sustancias de abuso (usando como criterio el positivo en meconio) y los distintos parámetros neonatales y efectos clínicos observados en el neonato, como son: la longitud, peso y perímetro craneal al nacer, la edad gestacional, la puntuación en el test de Apgar y el síndrome de abstinencia neonatal (SAN).

3.3. BIBLIOGRAFÍA

1. Levine B, Kerrigan S. Principles of forensic toxicology. 5º Edición. Switzerland: Springer; 2020.
2. Jiménez M, Repetto Kuhn G. Toxicología Fundamental. 4ª Edición. Sevilla, España: Ed. Díaz de Santos S.A.; 2009.
3. Scientific Working Group for Forensic Toxicology. Scientific Working Group for Forensic Toxicology (SWGTOX) standard practices for method validation in forensic toxicology. J Anal Toxicology. 2013;37(7):452–474.
<https://doi.org/10.1093/jat/bkt054>





4. TRABAJOS PUBLICADOS

A continuación se exponen las publicaciones que constituyen esta Tesis Doctoral:

- **Artículo 1:** *López-Rabuñal A, Lendoiro E, González-Colmenero E, Concheiro-Guisán A, Concheiro-Guisán M, Peñas-Silva P, Macias-Cortiña M, López-Rivadulla M, Cruz A, de-Castro-Ríos A. Assessment of Tobacco Exposure During Pregnancy by Meconium Analysis and Maternal Interview. J Anal Toxicol. 2020;44 (8):797-802. El Material Suplementario de este Artículo se encuentra en el Anexo 1 de esta Tesis Doctoral.*
- **Artículo 2:** *López-Rabuñal A, Lendoiro E, Concheiro M, López-Rivadulla M, Cruz A, de-Castro-Ríos A. LC-MS-MS Method for the Determination of Antidepressants and Benzodiazepines in Meconium. J Anal Toxicol. 2020;44 (6):580-588. El Material Suplementario de este Artículo se encuentra en el Anexo 2 de esta Tesis Doctoral.*
- **Artículo 3:** *López-Rabuñal A, Lendoiro E, Concheiro-Guisán M, González-Colmenero E, Peñas-Silva P, Concheiro-Guisán A, Macias-Cortiña M, López-Rivadulla M, de-Castro-Ríos A, Cruz A. Meconium and maternal hair analysis vs. medical records to monitor antidepressants and benzodiazepines exposure during pregnancy. Forensic Toxicol. 2021. El Material Suplementario de este Artículo se encuentra en el Anexo 3 de esta Tesis Doctoral.*
- **Artículo 4:** *López-Rabuñal A, Lendoiro E, Concheiro M, López-Rivadulla M, Cruz A, de-Castro-Ríos A. A LC-MS/MS method for the determination of common synthetic cathinones in meconium. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2019;1124:349-355.*



4.1. ARTÍCULO 1

Título	Assessment of Tobacco Exposure During Pregnancy by Meconium Analysis and Maternal Interview	
Autores	Ángela López-Rabuñal ¹ , Elena Lendoiro ¹ , Eva González-Colmenero ² , Ana Concheiro-Guisán ² , Marta Concheiro-Guisán ³ , Patricia Peñas-Silva ⁴ , Manuel Macias-Cortiña ⁴ , Manuel López-Rivadulla ¹ , Angelines Cruz ¹ , Ana de-Castro-Ríos ¹	
Afiliaciones	¹ Servizo de Toxicoloxía, Instituto de Ciencias Forenses, Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España ² Sección de Neonatoloxía, Complexo Hospitalario Universitario de Vigo, Vigo, España ³ John Jay College of Criminal Justice, City University of New York, New York, NY, USA ⁴ Sección de Xinecoloxía e Obstetricia, Complexo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España	
Año	2020	
Revista	Journal of Analytical Toxicology	
Volumen	44(8),797-802	
Editorial	Oxford University Press	
ISSN/ISBN	0146-4760	
DOI	https://doi.org/10.1093/jat/bkaa027	
Contribución de la doctoranda	Desarrollo y validación del método analítico, Análisis y procesamiento de muestras reales, Análisis estadístico, Redacción del borrador del artículo	
Índices de Calidad	Factor de Impacto	3.513
	Raking Revista	Q1 (23/92; Toxicología)
Número de Licencia Autorización Editorial	5001300349824	



4.2. ARTÍCULO 2

Título	LC-MS-MS Method for the Determination of Antidepressants and Benzodiazepines in Meconium	
Autores	Ángela López-Rabuñal ¹ , Elena Lendoiro ¹ , Marta Concheiro-Guisán ² , Manuel López-Rivadulla ¹ , Angelines Cruz ¹ , Ana de-Castro-Ríos ¹	
Afiliaciones	¹ Servizo de Toxicoloxía, Instituto de Ciencias Forenses, Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España ² John Jay College of Criminal Justice, City University of New York, New York, NY, USA	
Año	2020	
Revista	Journal of Analytical Toxicology	
Volumen	44(6),580-588	
Editorial	Oxford University Press	
ISSN/ISBN	0146-4760	
DOI	https://doi.org/10.1093/jat/bkaa012	
Contribución de la doctoranda	Desarrollo y validación del método analítico, Análisis y procesamiento de muestras reales, Redacción del borrador del artículo	
Índices de Calidad	Factor de Impacto	3.513
	Raking Revista	Q1 (23/92; Toxicología)
Número de Licencia Autorización Editorial	5001301071935	



4.3.ARTÍCULO 3

Título	Meconium and maternal hair analysis vs. medical records to monitor antidepressants and benzodiazepines exposure during pregnancy	
Autores	Ángela López-Rabuñal ¹ , Elena Lendoiro ¹ , Marta Concheiro-Guisán ² , Eva González-Colmenero ³ , Patricia Peñas-Silva ⁴ , Ana Concheiro-Guisán ³ , Manuel Macía-Cortiñas ⁴ , Manuel López-Rivadulla ¹ , Ana de-Castro-Ríos ¹ , Angelines Cruz ¹	
Afiliaciones	¹ Servizo de Toxicoloxía, Instituto de Ciencias Forenses, Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España ² John Jay College of Criminal Justice, City University of New York, New York, NY, USA ³ Sección de Xinecoloxía e Obstetricia, Complexo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España ⁴ Sección de Neonatoloxía, Complexo Hospitalario Universitario de Vigo, Vigo, España	
Año	2021	
Revista	Forensic Toxicology	
Volumen	-	
Editorial	Springer	
ISSN/ISBN	-	
DOI	https://doi.org/10.1007/s11419-021-00576-9	
Contribución de la doctoranda	Análisis y procesamiento de muestras reales, Análisis estadístico, Redacción del borrador del artículo	
Índices de Calidad	Factor de Impacto	2,945
	Raking Revista	Q2 (43/92; Toxicología)
Número de Licencia Autorización Editorial	5054760218413	



4.4. ARTÍCULO 4

Título	A LC-MS/MS method for the determination of common synthetic cathinones in meconium	
Autores	Ángela López-Rabuñal ¹ , Elena Lendoiro ¹ , Marta Concheiro ² , Manuel López-Rivadulla ¹ , Angelines Cruz ¹ , Ana de-Castro-Ríos ¹	
Afiliaciones	¹ Servizo de Toxicoloxía, Instituto de Ciencias Forenses, Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España ² John Jay College of Criminal Justice, City University of New York, New York, NY, USA	
Año	2019	
Revista	Journal of Chromatography B	
Volumen	1124, 349-355	
Editorial	Elsevier	
ISSN/ISBN	1570-0232	
DOI	https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2019.06.030	
Contribución de la doctoranda	Desarrollo y validación del método analítico, Análisis y procesamiento de muestras reales, Redacción del borrador del artículo	
Índices de Calidad	Factor de Impacto	3,004
	Raking Revista	Q2 (29/86; Química Analítica)
Autorización Editorial	https://www.elsevier.com/about/policies/copyright#Author-rights	



5. DISCUSIÓN

Como se ha ido mencionando a lo largo de esta Tesis Doctoral, el meconio es una matriz biológica muy interesante a la hora de detectar la exposición prenatal a drogas y/o sustancias de abuso. Su amplia ventana de detección, su recolección fácil y no invasiva y, sobre todo, que ofrece información directa sobre la exposición del feto a sustancias de abuso, son las principales características que hacen del meconio la matriz de referencia o “*gold standard*” en la detección de la exposición intraútero a drogas y/o sustancias de abuso.

A continuación se realizará una discusión general de los trabajos que forman parte de esta Tesis Doctoral. En la misma se revisarán los factores a tener en cuenta a la hora de analizar una muestra biológica tan compleja como es el meconio y se discutirán los métodos analíticos presentes en esta Tesis Doctoral; se comparará la utilidad del meconio para la detección de la exposición intraútero a sustancias con la entrevista y pelo maternos; y, por último, se discutirán los efectos adversos que produce la exposición intraútero a sustancias de abuso en el recién nacido.

5.1. ESTUDIO DEL MECONIO COMO MUESTRA ALTERNATIVA EN LA DETECCIÓN DE LA EXPOSICIÓN INTRAÚTERO A DROGAS Y/O SUSTANCIAS DE ABUSO

5.1.1. Biomarcadores de drogas y psicofármacos en meconio

Como se vio en el Capítulo de la Introducción, las drogas y/o sustancias de abuso se distribuyen fácilmente a través de la placenta. Además, la placenta contribuye, junto con el riñón y el hígado, a la eliminación de dichos xenobióticos, ya que presenta multitud de sistemas enzimáticos responsables de los procesos metabólicos de fase I (oxidación y reducción) y de fase II (conjugación) [1-3]. A pesar de que el meconio se considera una muestra biológica estática o metabólicamente inactiva [4-6], antes de llegar a él las drogas y/o sustancias de abuso son producto del metabolismo y eliminación maternos y de la transferencia y el metabolismo

placentario y fetal [5,7,8]. Por ello, es muy probable detectar en el meconio tanto el compuesto original como sus metabolitos [9,10]. De hecho, para las drogas de abuso más comunes (alcohol etílico, cannabis, cocaína, opiáceos y anfetaminas), tanto el compuesto original como los metabolitos producidos en los procesos metabólicos de fase I se usan como indicadores de la exposición prenatal a sustancias:

- Etanol: una vez que el etanol presente en las bebidas alcohólicas atraviesa la placenta es transformado en ésteres etílicos de ácidos grasos (FAEEs, por sus siglas en inglés) por la esterificación enzimática de ácidos grasos séricos con el etanol [11,12]. No obstante, dado que los FAEEs no atraviesan la barrera placentaria [13], su presencia en el meconio se debe a la síntesis fetal y estará directamente relacionada con la exposición fetal al alcohol [14,15]. Otros metabolitos usados en la determinación de la exposición intraútero al alcohol son el etilglucuronido (EtG) y el etilsulfato (EtS), que sí pueden cruzar la placenta [16] y son detectables solo si se ha consumido alcohol, es decir, no presentan síntesis endógena [17,18].
- Cannabis: los metabolitos del Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC), en especial el 11-Nor-9-carboxi- Δ^9 -THC, el 11-hidroxi- Δ^9 -THC y el 8,11-dihidroxi- Δ^9 -THC (THCCOOH, OH-THC y diOHTHC, respectivamente), están presentes de manera significativa en el meconio [19-24].
- Cocaína: la cocaína rara vez se encuentra sola en el meconio [5,25], mientras que ciertos metabolitos como la benzoilecgonina y la meta-hidroxibenzoilecgonina son el principal indicador de la exposición prenatal a cocaína en el meconio [9,19,26,27]. Cuando se consume conjuntamente con el alcohol, la cocaína es transesterificada por esterasas hepáticas a cocaetileno, el cual es un biomarcador de la exposición prenatal a ambas drogas [28].
- Opiáceos: la heroína se desacetila rápidamente a 6-acetilmorfina (6-AM) y este metabolito activo a su vez se hidroliza a morfina [2], por lo que ambos compuestos son los indicadores en meconio del consumo de heroína durante el embarazo [9,23,29]. Además, se ha informado de la presencia del principal metabolito de la metadona, la 2-etilidin-1,5-dimetil-3,3-difenolpirrolidina (EDDP), en el meconio [5,9].

- Anfetaminas: constituyen la principal excepción, ya que, aunque sus metabolitos se pueden extraer del meconio, generalmente solo los compuestos originales (anfetamina/metanfetamina/MDMA) parecen detectarse en la práctica [5,30,31].

Un comportamiento similar es observado con los compuestos que forman parte de esta Tesis Doctoral:

- La **nicotina** se metaboliza por oxidación a través de la isoenzima CYP2A6 del citocromo P450 a cotinina, que a su vez se metaboliza para producir hidroxicotinina y norcotinina [2,32]. Tradicionalmente, la cotinina se consideraba el biomarcador para la exposición al humo de tabaco [10], e incluso en la detección de la exposición prenatal se han desarrollado métodos analíticos para su determinación en meconio [33-35]. No obstante, en trabajos recientes se observó que la nicotina y la hidroxicotinina son también biomarcadores importantes y frecuentes [26,36-38], y que su análisis aumenta la capacidad de detección de neonatos prenatalmente expuestos al tabaco [39,40].
- La mayoría de **benzodiazepinas** cruzan la barrera placentaria y así ocurre con el clonazepam, flunitrazepam, lorazepam, midazolam, zolpidem y el diazepam y sus metabolitos (nordiazepam, oxazepam y temazepam) [32]. Tanto el alprazolam como sus dos metabolitos hidroxilados cruzan la placenta [41]. Además, McMillin *et al.* [9] observó que en el 68,6% de los meconios positivos a alprazolam y en el 45,7% a clonazepam se detectó tanto el compuesto original como su principal metabolito (α -OH-alprazolam y 7-aminoclonazepam, respectivamente). De igual manera ocurrió con el diazepam, el cual rara vez se encontró solo en el meconio, siendo lo más frecuente su detección junto a 3 de sus metabolitos (oxazepam, nordiazepam y temazepam) [9].
- En cuanto a los **antidepresivos**, se ha demostrado que todos ellos atraviesan la placenta en mayor o menor porcentaje [3]. Específicamente, para los antidepresivos tricíclicos (ATC) se sabe que tanto la amitriptilina y la imipramina como sus principales metabolitos (nortriptilina y desipramina, respectivamente) cruzan la barrera placentaria [32]. En un estudio realizado en suero de cordón umbilical se detectaron ATC (nortriptilina y clomipramina), por lo que se demostró también la transferencia placentaria de dichos antidepresivos [42]. Y lo mismo sucede con la fluoxetina y el citalopram y sus principales metabolitos

- (norfluoxetina y desmetilcitalopram, respectivamente) [43,44]. Además, para algunos antidepresivos ISRS (fluoxetina y citalopram), se detectaron en suero de cordón umbilical mayores concentraciones de sus metabolitos que del compuesto original, lo que indica que el feto es capaz de metabolizar y eliminar dichos fármacos [44]. Un dato a tener en cuenta en el caso de los psicofármacos, tanto para las benzodiacepinas como para los antidepresivos, es que puede ser difícil identificar a qué sustancia estuvo expuesto el feto, ya que algunos metabolitos de fármacos también son usados como fármacos en sí mismos. Un ejemplo de ello en el grupo de las benzodiacepinas es el diazepam y sus metabolitos, ya que tanto él como el oxazepam, nordiazepam y temazepam se usan como fármacos. De igual manera ocurre en los antidepresivos con la amitriptilina y la imipramina y sus principales metabolitos, la nortriptilina y desipramina, respectivamente [32].
- Desafortunadamente, para el grupo de las **Nuevas Sustancias Psicoactivas (NPS)**, en el que se encuentran drogas como las catinonas sintéticas, los datos disponibles sobre su metabolismo son muy escasos por ser sustancias relativamente recientes. No obstante, se ha demostrado que todos los derivados de la catinona experimentan un extenso metabolismo de fase I y que la mayoría se eliminan como metabolitos a través de la orina, ya sea en forma libre o como conjugados formados mediante glucuronidación de fase II [45]. En cuanto al paso de estas sustancias a través de la barrera placentaria, se han realizado estudios en ratas embarazadas en los que se observó que la metilona, mefedrona y metilendioxipirovalerona (MDPV) la cruzan [46], pero todavía no hay estudios sobre su metabolismo fetal ni en mujeres embarazadas.

Por todo ello, se puede concluir que es de vital importancia que los métodos de detección de sustancias de abuso en meconio incluyan tanto los compuestos originales como los metabolitos, para evaluar lo más fielmente posible la exposición intraútero a drogas y/o sustancias de abuso. Los métodos analíticos desarrollados en esta Tesis Doctoral ratifican la importancia de detectar la presencia tanto del compuesto original como de los metabolitos en el meconio. Así, de los 100 casos positivos detectados en las 565 muestras de meconio analizadas para la detección de la exposición prenatal a tabaco (**Artículo 1**), el 76% lo fueron a los tres analitos (nicotina, cotinina y OH-cotinina) y solo nueve casos fueron positivos para un único analito. Además, se detectaron más casos positivos a los metabolitos (cotinina y OH-

cotina) que al compuesto original (nicotina); concretamente, 93 positivos para cada uno de los metabolitos frente a 81 positivos a nicotina. Los resultados de 145 meconios analizados para la detección de la exposición intraútero a psicofármacos (benzodiazepinas y antidepresivos) (**Artículo 3**) también constatan el mismo patrón. Así, en 17 de los 21 meconios positivos a diazepam se detectó alguno de los metabolitos del fármaco (9 positivos a nordiazepam, 6 positivos a diazepam y nordiazepam, 1 positivo a nordiazepam y oxazepam y 1 positivo a los 3 analitos). También en 1 de los 3 casos positivos a alprazolam se detectó α -OH-alprazolam. Dado que en el método analítico de esta Tesis Doctoral no se incluía ningún metabolito para clonazepam y midazolam, solo se han podido detectar los compuestos originales en los 2 casos positivos. En cuanto a los antidepresivos, en prácticamente todas las muestras positivas en meconio se detectaron tanto el compuesto original como el metabolito correspondiente. Así, la muestra positiva a clomipramina también tenía norclomipramina, las 2 muestras positivas a fluoxetina presentaban norfluoxetina y en cuatro de las cinco muestras positivas a citalopram se detectó desmetilcitalopram.

5.1.2. Tratamiento del meconio como muestra biológica: procesos de hidrólisis

Todos los metabolitos mencionados anteriormente se forman por procesos enzimáticos de fase I, pero también las enzimas de fase II como las uridinadifosfato glucuroniltransferasas (UGTs) juegan un papel importante en la determinación de la exposición prenatal a sustancias [1]. Muchos compuestos cruzan la placenta como metabolitos inactivos formados mediante la conjugación de sus metabolitos hidroxilados con el ácido glucurónico [32].

Como ya se mencionó en la Introducción, el meconio es una muestra biológica de composición muy compleja y de difícil manejo a nivel del laboratorio. Como tal, antes de su análisis debe pasar por una serie de procesos de homogeneización, extracción e incluso hidrólisis, que pueden influir de manera drástica en la recuperación de los metabolitos presentes en esta matriz. Así, en la preparación del meconio previa a su análisis en ocasiones es necesario realizar una hidrólisis alcalina o enzimática para liberar los analitos de interés, ya que pueden encontrarse conjugados al glucurónico [20,31,47]. Dempsey *et al.* [33] demostraron que la cotina forma enlaces de base de Schiff reversibles con los grupos amino libres de las proteínas y que dichos enlaces se pueden romper mediante hidrólisis. Para ello se sometieron las muestras de meconio a una hidrólisis básica y, efectivamente, los casos positivos ascendieron del 33,3%

(sin hidrólisis) al 79,4% (con hidrólisis). Además, Gray *et al.* [48] comprobaron que una misma muestra de meconio podía tener una combinación distinta de metabolitos del THC dependiendo del procedimiento de hidrólisis elegido. Por ello, es muy importante seleccionar correctamente el método de hidrólisis a emplear, e incluso decidir si dicho procedimiento es necesario o no, ya que en algunos trabajos se observó que dicho proceso no aumentaba significativamente la concentración de los analitos de interés [49].

En el método analítico desarrollado en esta Tesis Doctoral para la determinación de la exposición prenatal a tabaco se compararon dos procesos de hidrólisis (básica con KOH y enzimática con β -glucuronidasa en condiciones neutras -tampón fosfato; pH=6,8), con la homogeneización sin hidrólisis. Como se muestra en la Figura 6 el procedimiento con los mejores resultados para los 3 analitos fue la hidrólisis básica.

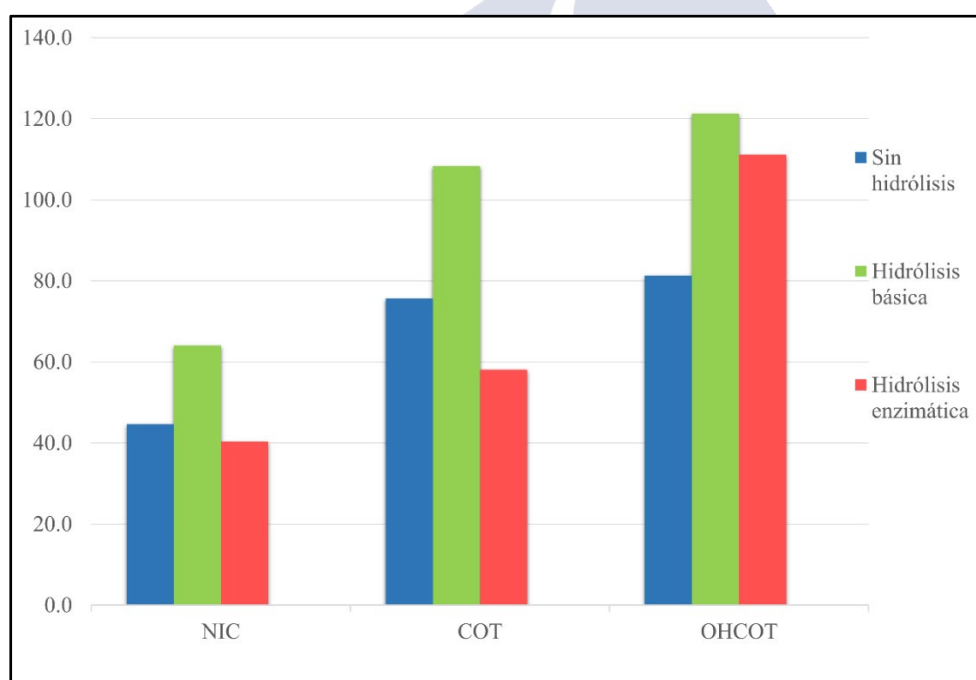


Figura 6. Resultados de las pruebas de hidrólisis para nicotina y sus metabolitos cotinina e hidroxicotinina

En el caso del método analítico para la determinación de la exposición intraútero a psicofármacos (**Artículo 2**) se compararon la hidrólisis básica con KOH y la hidrólisis enzimática con β -glucuronidasa en condiciones ligeramente ácidas (tampón fosfato; pH=5) con el procedimiento de extracción sin hidrólisis. No se encontró diferencia significativa entre

realizar o no la hidrólisis del meconio (%CV<20). Si bien la hidrólisis solo se evaluó para unos compuestos determinados (clonazepam, diazepam, alprazolam, fluoxetina y clomipramina), estos fármacos son los más habituales en la práctica clínica y se estima que el resto de compuestos presentes en el método tendrían un comportamiento similar. Por tanto, a la vista de los resultados se decidió no llevar a cabo el proceso de hidrólisis, ya que es un procedimiento complicado y que conlleva tiempo, y en este caso aporta pocos beneficios.

Finalmente, en el método para la detección de catinonas sintéticas en meconio no se han podido realizar pruebas de hidrólisis al no disponer de muestras reales positivas para realizar dichos experimentos. En dos trabajos publicados con casos reales sí se han detectado metabolitos. Se trataban de un caso de muerte fetal por consumo de NPS durante el embarazo en el que se analizó la sangre del feto y se detectó la presencia de 3,4-metilendioxi- α -pirrolidinoheptiofenona (3,4-MDPHP) y α -pirrolidinoheptiofenona (α -PHP) [50], y de un caso de SAN en el que se detectó la presencia de 4-metilcatinona (4-MEC) en el meconio del neonato [51]. En ninguno de los dos casos se realizó ningún proceso de hidrólisis de la muestra. Además, en algunos trabajos previamente publicados para la detección de estas sustancias en otras muestras biológicas como la orina o la sangre se observó que no era un paso necesario en la determinación de los compuestos originales. Por ejemplo, en el método desarrollado por Anizan *et al.* [52] se observó que, aunque las concentraciones de los metabolitos del MDPV en sangre (catinona sintética presente en el método analítico descrito en esta Tesis Doctoral) aumentaban al realizar una hidrólisis enzimática con β -glucuronidasa, en las del compuesto original no se producían cambios. De igual modo se observó que la hidrólisis aumentaba las concentraciones de los metabolitos de algunas catinonas como la metilona (presente en el método analítico descrito en esta Tesis Doctoral), pero no de los compuestos originales [53].

5.1.3. Ventana de detección del meconio

Se cree que la ventana de detección del meconio abarca las últimas 20 semanas del embarazo, es decir, el segundo y, sobre todo, el tercer trimestre [31,54]. No obstante, dado que la producción del meconio presenta un crecimiento exponencial, y que el 75% del meconio se forma durante las últimas 8 semanas de gestación, son las exposiciones en el tercer trimestre las que se detectan más fácilmente [55]. Aun así, Ostrea *et al.* [56] detectaron la presencia de drogas de abuso consumidas por la madre en el análisis postmortem de meconios procedentes

de fetos que sufrieron aborto espontáneo en las semanas 17 y 22 de embarazo. También Cortés *et al.* [57] detectaron muestras positivas en meconio que procedían de casos en los que el pelo materno era positivo en el segundo y/o tercer trimestre, e incluso en dos casos en que el pelo era positivo en el primer y segundo trimestre, pero negativo en el tercero. Finalmente, Himes *et al.* estudiaron la exposición intraútero a fármacos antirretrovirales, concluyendo que aunque el meconio refleja principalmente la exposición prenatal en el tercer trimestre, en algunas circunstancias es posible la detección de la exposición en el segundo trimestre (6 de 107 muestras) [58]. Contrariamente, algunos estudios sugieren que es menos probable que la exposición a sustancias durante el segundo trimestre del embarazo se detecte en el meconio, siendo su análisis un reflejo solo del tercer trimestre [59-62].

Concretamente, en los experimentos realizados en esta Tesis Doctoral, se estudió la ventana de detección en el meconio para el tabaco (**Artículo 1**) y para los psicofármacos (**Artículo 3**). En el caso del tabaco, al comparar los resultados del meconio con los datos de la entrevista materna se observó que más del 90% de las muestras de meconio positivas a nicotina y/o sus metabolitos procedían de recién nacidos cuyas madres admitieron el consumo de tabaco tanto en el segundo como en el tercer trimestre. Para los psicofármacos, al comparar los resultados en meconio con los encontrados al analizar los segmentos de las muestras de pelo materno correspondientes, se encontró que de los 15 casos en los que ambas muestras eran positivas, en 14 el pelo era positivo en el tercer trimestre y en el caso restante el pelo fue negativo en el 3º trimestre pero positivo en el 1º y 2º trimestre. Por tanto, con estos resultados se puede concluir que los resultados de esta Tesis Doctoral coinciden con la teoría expuesta por Himes *et al.* [58] de que el análisis de meconio refleja principalmente la exposición a sustancias durante el tercer trimestre de embarazo, detectándose también en algunos casos la exposición durante el segundo.

Por último, cabe destacar que tanto en uno de los trabajos realizado en esta Tesis Doctoral (**Artículo 3**) como en otros artículos publicados previamente [9,63,64] se observó que el análisis de meconio permite detectar incluso los fármacos administrados en el momento del parto. Este hallazgo pone de manifiesto que las drogas y/o sustancias de abuso consumidas por la madre se incorporan al meconio en cuestión de horas.

5.2. DESARROLLO DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS EN MECONIO

En todo método analítico hay 3 elementos fundamentales a tener en cuenta: la técnica analítica empleada, la cantidad de muestra analizada y su límite de detección (LOD). En esta Tesis Doctoral se han desarrollado y validado 3 metodologías analíticas en meconio para la determinación de tabaco, psicofármacos (antidepresivos y benzodiacepinas) y NPS. En todas ellas la técnica analítica empleada ha sido la cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS), la cantidad de muestra analizada ha sido muy reducida (0,25 g) y se han alcanzado LODs satisfactorios para los fines previstos. A continuación se discuten en profundidad cada una de ellas.

5.2.1. Métodos analíticos para la detección del tabaco

En primer lugar se desarrolló una metodología para la detección de la exposición intraútero a tabaco mediante el análisis de muestras de meconio. El método se ha basado en la LC-MS/MS, e incluye la nicotina y sus dos principales metabolitos, cotinina y trans-3'-hidroxicotinina (OH-cotinina) (**Artículo 1**).

Las técnicas analíticas empleadas para la detección de la exposición intraútero a tabaco en los trabajos publicados hasta la fecha incluyeron tanto técnicas de inmunoensayo [33-35,65] como métodos cromatográficos de líquidos [26,36-38,40,66,67] o de gases [68,69]. Las técnicas de inmunoensayo se suelen utilizar, en toxicología analítica, como primer paso a modo de técnicas screening, para después confirmar los resultados con métodos cromatográficos. No obstante, en el caso del tabaco solo Ostrea *et al.* [65] realizaron dicha confirmación (por GC-MS). En cuanto a los métodos cromatográficos, en su mayoría iban acoplados a la espectrometría de masas como sistema de detección [26,37,38,40,67,69], pero también se utilizaron otros sistemas como la detección ultravioleta/visible [36], el detector de array de diodos [66] o el detector de Nitrógeno-Fósforo [68].

Como se explicó en el anterior apartado, en una muestra biológica como el meconio es importante no solo detectar la presencia del compuesto de interés, sino también la de sus metabolitos. En el caso de la nicotina, la mayoría de los métodos publicados en meconio suelen detectar su principal metabolito, es decir, la cotinina [33-35,66,68,69]. Otros autores, al igual que en el método incluido en esta Tesis Doctoral, detectan tanto la cotinina como la OH-cotinina

[26,36,38,40,65]. Finalmente, Marin *et al.* [67] también detectan nornicotina, y Gray *et al.* [37], nornicotina y norcotinina.

La cantidad de muestra analizada es un factor muy importante en el desarrollo de un método analítico en meconio, ya que es una muestra biológica que en multitud de ocasiones está presente en una cantidad limitada, lo que obliga a priorizar los análisis a realizar. En el método descrito en esta Tesis Doctoral se han utilizado tan solo 0,25 g, frente a la mayoría de trabajos previos, que analizan el doble (0,5 g) [36-38,40,65,68] o incluso cuatro veces más (1 g) [33-35,66]. Por tanto, el presente método utiliza una cantidad de muestra considerablemente pequeña, que permitirá realizar otros análisis en caso de ser necesarios.

En relación con los procesos previos al análisis del meconio, los métodos descritos realizan la homogeneización de la muestra biológica con MeOH [33-36,67,69], MeOH con ácido fórmico [26,37] o en medio básico, ya sea con tampón fosfato [65] o con KOH [38]. A continuación puede realizarse un proceso de hidrólisis, ya sea básica [33,36,38,40] o enzimática [37]. La **Tabla 1** resume la información analítica sobre los principales métodos para la detección de la exposición intraútero a tabaco en meconio publicados hasta la fecha.

Tabla 1. Métodos para la detección de la exposición intraútero a tabaco en meconio

Autores	Metabolitos	Cantidad Muestra (g)	Tratamiento Muestra	Método instrumental	LOD / LOQ (ng/g)	Rango de concentración (ng/g)
Ostrea <i>et al.</i> (1994) [65]	COT OH-COT	0,5	<ul style="list-style-type: none"> - Homogeneización con tampón fosfato (pH=7) → RIA - SPE con columnas de modo mixto → Cantidad de muestra suficiente: RIA + GC-MS 	RIA GC-MS		
Baranowski <i>et al.</i> (1998) [66]	NIC COT	2	<ul style="list-style-type: none"> - LLE con Cloroformo - SPE con columnas en fase reversa 	LC-DAD	LOD: 10 ng/mL	10 - 500 ng/mL

Tabla 1. Métodos para la detección de la exposición intraútero a tabaco en meconio (Continuación)

Autores	Metabolitos	Cantidad Muestra (g)	Tratamiento Muestra	Método instrumental	LOD / LOQ (ng/g)	Rango de concentración (ng/g)
Dempsey <i>et al.</i> (1999) [33]	COT	0,5 - 1	<ul style="list-style-type: none"> - Homogeneización con MeOH - Hidrólisis básica con KOH - SPE con columnas de modo mixto 	EIA		25- 100
Derauf <i>et al.</i> (2003) [34]	COT	1	<ul style="list-style-type: none"> - Homogeneización 	ELISA	25 (Cut-off)	
Sherif <i>et al.</i> (2004) [35]	COT	0,5 - 1	<ul style="list-style-type: none"> - Homogeneización con MeOH 	RIA		
Köhler <i>et al.</i> (2007) [36]	NIC COT OH-COT	0,5	<ul style="list-style-type: none"> - Homogeneización con MeOH e Hidrólisis Básica - SPE con columnas de modo mixto 	LC- UV/VIS	LOD: 20 pmol/g	
Gray <i>et al.</i> (2008) [37]	NIC COT OH-COT NorNIC NorCOT	0,5	<ul style="list-style-type: none"> - Homogeneización con MeOH + 0,1% de AF - Hidrólisis enzimática con β-Glucuronidasa a pH básico - SPE con columnas de modo mixto 	LC-MS/MS	1,25 / 5 (LOD = LOQ)	LOQ - 500
Gray <i>et al.</i> (2009) [26]	NIC COT OH-COT	0,25	<ul style="list-style-type: none"> - Homogeneización con MeOH + 0.1% de AF - SPE con columnas de modo mixto 	LC-MS/MS	LOD: 0,5 - 5 LOQ: 1 - 5	LOQ - 500

Tabla 1. Métodos para la detección de la exposición intraútero a tabaco en meconio (Continuación)

Autores	Metabolitos	Cantidad Muestra (g)	Tratamiento Muestra	Método instrumental	LOD / LOQ (ng/g)	Rango de concentración (ng/g)
Braun <i>et al.</i> (2010) [40]	NIC COT OH-COT	0,5	<ul style="list-style-type: none"> - Hidrólisis con KOH - Extracción con cloruro de metileno y etanol - Extracción con ácido clorhídrico - SPE con columnas de modo mixto 	LC-MS/MS	LOD: 0,092 - 0,946	LOD - 324
Marin <i>et al.</i> (2011) [67]	NIC COT OH-COT NorNIC	0,25	<ul style="list-style-type: none"> - Homogeneización con MeOH - SPE con columnas de modo mixto 	LC-MS/MS	LOQ: 2 - 4	COT y NorNIC: 2 - 50 NIC y OH-COT: 4 - 100
Xia <i>et al.</i> (2011) [38]	NIC COT OH-COT	0,5	<ul style="list-style-type: none"> - Homogeneización e hidrólisis básica con KOH - SPE con columnas de modo mixto 	LC-MS/MS	LOD: 0,092 - 0,946 LOQ: 0,307 - 3,15	0 - 37,5/150 ng/mL
Sant'Anna <i>et al.</i> (2012) [68]	NIC COT	0,5	<ul style="list-style-type: none"> - Extracción acelerada con disolventes (ASE) 	GC-NPD	LOD: 3 - 30 LOQ: 5 - 40	LOQ - 500
Mozaner <i>et al.</i> (2014) [69]	NIC COT	0,3	<ul style="list-style-type: none"> - Homogeneización con MeOH - Extracción con Pipeta Desechable (DPX) 	GC-MS	LOD: 5 - 15 LOQ: 10 - 20	NIC: 100 - 1000 COT: 20 - 900
<p>Celda vacía : dato no disponible; COT: Cotinina; DAD: Detector de array de diodos; ELISA: Inmunoensayo Ligado a Enzima; GC: Cromatografía de Gases; KOH: Hidróxido potásico; LC: Cromatografía Líquida; LLE: Extracción Líquido-Líquido; LOD: Límite de Detección; LOQ: Límite de Cuantificación; MeOH: Metanol; MS(/MS): Espectrometría de Masas (/en tándem); NIC: Nicotina; NorCOT; Norcotinina; NorNIC: Nornicotina; NPD: Detector de Nitrógeno-Fósforo; OH-COT: Trans-3'-hidroxicotinina; RIA: radioinmunoensayo; SPE: Extracción en Fase Sólida; UV/VIS: Detector ultravioleta/visible</p>						

5.2.2. Métodos analíticos para la detección de psicofármacos

El método analítico para la detección de la exposición intraútero a psicofármacos en meconio también se basó en LC-MS/MS (**Artículo 2**). Para este grupo de sustancias hay pocos trabajos publicados y todos ellos utilizan métodos cromatográficos para la separación de los compuestos, ya sea cromatografía líquida [70,71] o gaseosa [72-74]. El método de detección empleado fue la espectrometría de masas en todos los casos [70,71,73,74], excepto Ostrea *et al.* [72], que utilizaron detección ultravioleta/visible. Además, excepto en el trabajo de Bar-Oz *et al.* [73], todos ellos usan más cantidad de muestra que en el método descrito en esta Tesis Doctoral (0,5 - 1 g vs. 0,25 g) [70-72,74]. Tanto el LOD como el LOQ son bastante similares en todos los trabajos publicados.

Cabe destacar que el método descrito en esta Tesis Doctoral permite detectar por primera vez en meconio fármacos como el bromazepam, flunitrazepam y triazolam, y los metabolitos norclomipramina, desmetilcitalopram, desipramina, nortriptilina, desmetilvenlafaxina y 7-aminoflunitrazepam.

En cuanto al pretratamiento de la muestra previo a su análisis, en gran parte de los trabajos publicados se homogeneizó la muestra con MeOH [70-73], proceso al que le siguió una extracción líquido-líquido [71,74] o en fase sólida [70,72]. Marin *et al.* [70] realizan además una hidrólisis enzimática, pero en el trabajo descrito en esta Tesis Doctoral no fue necesario ningún tipo de hidrólisis porque (como se mostró en el apartado anterior) su efecto en la recuperación de los compuestos presentes en la muestra no era significativo.

La **Tabla 2** muestra las principales características de los métodos para la detección de la exposición intraútero a psicofármacos en meconio publicados hasta la fecha.

Tabla 2. Métodos para la detección de la exposición intraútero a antidepresivos y benzodiazepinas en meconio

Autores	Metabolitos	Cantidad Muestra (g)	Tratamiento Muestra	Método instrumental	LOD / LOQ (ng/g)	Rango de concentración (ng/g)
Ostrea <i>et al.</i> (1998) [72]	Sertralina	1	<ul style="list-style-type: none"> - Homogeneización con MeOH - SPE con columnas de modo mixto 	LC-UV/VIS GC-MS (Confirmación)	LOD: 200 ng/mL	
Bar-Oz <i>et al.</i> (2003) [73]	BZDs	0,2	<ul style="list-style-type: none"> - Homogeneización con MeOH 	ELISA GC-MS (Confirmación)	LOD: 50	
García-Algar <i>et al.</i> (2007) [74]	Alprazolam α -OH-Alprazolam	1	<ul style="list-style-type: none"> - LLE con Etilacetato 	GC-MS	LOD: 7 LOQ: 20	LOQ - 200
Marin <i>et al.</i> (2008) [70]	Alprazolam, α -OH-Alprazolam, Clonazepam, 7-NH-Clonazepam, Diazepam, Nordiazepam, Lorazepam, Midazolam, Oxazepam, Temazepam, α -OH-Et-Flurazepam, N-Desalquil-Flurazepam, α -OH-Triazolam	1	<ul style="list-style-type: none"> - Homogeneización con MeOH - Hidrólisis enzimática con β-Glucuronidasa a pH básico. - SPE con columnas de modo mixto 	LC-MS/MS	LOD: 10 LOQ: 20	10 - 5000

Tabla 2. Métodos para la detección de la exposición intraútero a antidepresivos y benzodiazepinas en meconio (Continuación)

Autores	Metabolitos	Cantidad Muestra (g)	Tratamiento Muestra	Método instrumental	LOD / LOQ (ng/g)	Rango de concentración (ng/g)
Pichini <i>et al.</i> (2016) [71]	Amitriptilina, Clomipramina, Clozapina, Norclozapina, Quetiapina, Duloxetina, Imipramina, Fluoxetina, Norfluoxetina, Citalopram, Paroxetina, Sertralina, Norsertalina, Venlafaxina, Alprazolam, Clonazepam, Diazepam, Nordiazepam, Lorazepam, Lormetazepam, Medazepam, Oxazepam	0,5	<ul style="list-style-type: none"> - Homogeneización con MeOH - LLE con Etilacetato y Hexano (80:20) 	UHPLC-MS/MS	LOD: 1,5 - 8 LOQ: 5 - 25	LOQ - 1000
<p>Celda vacía: dato no disponible; BZD: Benzodiazepinas; GC: Cromatografía de Gases; LC: Cromatografía Líquida; LLE: Extracción Líquido-Líquido; LOD: Límite de Detección; LOQ: Límite de Cuantificación; MeOH: Metanol; MS(/MS): Espectrometría de Masas (/en tándem); UHPLC: Cromatografía Líquida de Ultra Alta Presión; SPE: Extracción en Fase Sólida; UV/VIS: Detector ultravioleta/visible; α-OH-Alprazolam: α-Hidroxi-alprazolam; α-OH-Et-Flurazepam: α-Hidroxi-etilflurazepam; α-OH-Triazolam: α-Hidroxi-triazolam; 7-NH-Clonazepam: 7-Amino-clonazepam</p>						

5.2.3. Métodos analíticos para la detección de Nuevas Sustancias Psicoactivas

Por último, se desarrolló un método analítico para la detección de NPS en meconio, concretamente para la determinación de algunas de las catinonas sintéticas más consumidas en España: metilona, mefedrona, mecedrona, MDPV, 4-fluorometanfetamina y 4-fluorometcatinona (**Artículo 4**). Al igual que en los anteriores artículos de esta Tesis Doctoral, la metodología empleada fue la LC-MS/MS y se usó poca cantidad de muestra (0,25 g). El consumo de NPS es un problema relativamente reciente, por lo que los métodos para la detección de la exposición a dichas sustancias durante el embarazo son muy escasos [51,75]. Los LOD (0,5 - 1 ng/g) y LOQ (1 - 2 ng/g) del método analítico descrito en esta Tesis Doctoral fueron inferiores a los del método previamente publicado por Nemeškalová *et al.* (2 - 10 ng/g y 10 - 25 ng/g, respectivamente) [75].

La **Tabla 3** resume los principales métodos para la detección de la exposición intraútero a NPS en meconio publicados hasta la fecha.

Tabla 3. Métodos para la detección de la exposición intraútero a NPS en meconio

Autores	Metabolitos	Cantidad Muestra (g)	Tratamiento Muestra	Método instrumental	LOD / LOQ (ng/g)	Rango de concentración (ng/g)
Pichini <i>et al.</i> (2014) [51]	4-MEC	1	<ul style="list-style-type: none"> - Homogeneización con MeOH - SPE con columnas de modo mixto 	LC-MS/MS		
Nemeškalová <i>et al.</i> (2019) [75]	Mefedrona, MDPV, α -PVP, Metilona, Butilona, Flefedrona, Nafirona	0,2	<ul style="list-style-type: none"> - SALLE con Formiato de amonio y Bicarbonato de amonio (2:3;p/p) 	LC-MS/MS	LOD: 2-10 LOQ: 10-25	LOQ - 2000

Celda vacía: dato no disponible; LC: Cromatografía Líquida; LOD: Límite de Detección; LOQ: Límite de Cuantificación; MeOH: Metanol; MDPV: Metilendioxipirovalerona; MS(/MS): Espectrometría de Masas (/en tándem); SALLE: Extracción Líquido-Líquido asistida por sales; α -PVP: α -Pirrolidinopentiofenona; 4-MEC: 4-Metilcatinona

5.3. UTILIDAD DEL MECONIO PARA DETECTAR LA EXPOSICIÓN INTRAÚTERO A SUSTANCIAS DE ABUSO

Para evaluar la utilidad del meconio para detectar la exposición intraútero a drogas y/o sustancias de abuso se va a comparar los resultados obtenidos en el análisis de meconio con los observados en los indicadores más comúnmente usados para detectar la exposición intraútero a sustancias: la entrevista materna y el análisis de pelo materno.

5.3.1. Meconio vs. Entrevista materna

La entrevista materna ha sido durante mucho tiempo el método más frecuentemente utilizado para identificar a los recién nacidos en riesgo de exposición prenatal a sustancias de abuso. Su principal limitación es que se trata de un método de detección subjetivo en el que el número de casos reportados suele estar muy por debajo del consumo real. Es por ello que en esta Tesis Doctoral se planteó el análisis del meconio como alternativa a la entrevista materna para la detección de la exposición intraútero a drogas y/o sustancias de abuso.

En la **Tabla 4** se muestra una revisión bibliográfica de los trabajos en los que se comparó la eficacia del meconio como matriz biológica para la determinación de la exposición intraútero a drogas y/o sustancias de abuso con la entrevista personal a la madre.

Tabla 4. Revisión bibliográfica de la utilidad del meconio en la detección de la exposición intraútero a drogas y/o sustancias de abuso en comparación con la entrevista materna

Autores	Analitos	Población de estudio	Método instrumental	Casos Positivos Entrevista Materna	Casos Positivos Meconio
Ostrea <i>et al.</i> (1992) [8]	COC OP CAB	n=3010	RIA GC-MS (Confirmación)	11,1%	44,3%
Ostrea <i>et al.</i> (2001) [64]	COC OP CAB	n=58 (59 neonatos, un par de gemelos)	RIA	COC: 50,8% OP: 28,8% CAB: 30,5%	COC: 67,8% OP: 32,2% CAB: 10,2%

Tabla 4. Revisión bibliográfica de la utilidad del meconio en la detección de la exposición intraútero a drogas y/o sustancias de abuso en comparación con la entrevista materna (Continuación)

Autores	Analitos	Población de estudio	Método instrumental	Casos Positivos Entrevista Materna	Casos Positivos Meconio
Lester <i>et al.</i> (2001) [76]	COC OP CAB ANF PCP	n=8527	EMIT GC-MS (Confirmación)	COC: 7,3% OP: 1,2%	COC: 9,5% OP: 2,3% (Pero ≈70% de los positivos se confirmó por GC-MS)
Derauf <i>et al.</i> (2003) [34]	COT Alcohol	n=426 n=422	ELISA GC-MS	COT: 13,3% Alcohol: 5,3%	COT: 7,7% Alcohol: 17,1%
Pichini <i>et al.</i> (2005) [29]	COC OP ANF	n=549	LC-MS	2,5%	10,9%
Lozano <i>et al.</i> (2007) [22]	CAB	n=974	GC-MS	1,7%	5,3%
Ostrea <i>et al.</i> (2008) [77]	COT	n=482	ELISA	2,5%	3,5%

Tabla 4. Revisión bibliográfica de la utilidad del meconio en la detección de la exposición intraútero a drogas y/o sustancias de abuso en comparación con la entrevista materna (Continuación)

Autores	Analitos	Población de estudio	Método instrumental	Casos Positivos Entrevista Materna	Casos Positivos Meconio
García-Algar <i>et al.</i> (2009) [23]	COC OP CAB ANF	n=1209	LC-MS GC-MS	Total: 2,9% COC: 1,2% OP: 0,3% CAB: 1,5%	Total: 10,1% COC: 2,6% OP: 4,7% CAB: 5,3%
Gray <i>et al.</i> (2009) [59]	ANF CAB COT	n=3705	EMIT/ELISA GC-MS (Confirmación)	ANF: 5,5% CAB: 6,1% COT: 24,0%	ANF: 1,6% CAB: 2,2% COT: 20,2% (no confirmado por GC-MS)
Cortés <i>et al.</i> (2018) [57]	COC OP CAB ANF ADS BZD	n=513	UHPLC-MS/MS	Drogas: 1,4% Fármacos: 2,5%	Drogas: 0,4% Fármacos: 1,2%
ADS: Antidepresivos; ANF: Anfetaminas; BZD: Benzodiazepinas; CAB: Cannabionides; COC: Cocaína; COT: Cotinina; ELISA: Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas; EMIT: Ensayo Inmunológico Por Multiplicación Enzimática; FPIA: Inmunoensayo de polarización fluorescente; GC: Cromatografía de Gases; LC: Cromatografía de Líquidos; MS(/MS): Espectrometría de Masas (/en tándem); NIC: Nicotina; OH-COT: Trans-3'-hidroxicotinina; OP: Opiáceos; PCP: Fenciclidina; UHPLC: Cromatografía Líquida de Ultra Alta Presión; RIA: Radioinmunoensayo					

Como se puede observar en la mayoría de los trabajos publicados, el análisis de meconio reveló casos de consumo de drogas y/o sustancias de abuso durante el embarazo que no habían sido reportados por las madres en las entrevistas [8,22,23,29,76]. En el trabajo de Ostrea *et al.* [64], el meconio también mostró mayor sensibilidad a la hora de detectar el consumo de sustancias (opiáceos y cocaína) durante el embarazo, excepto para el cannabis. La “mala” sensibilidad del meconio para detectar la exposición a cannabis puede deberse a que en un 54% de los casos en los que la madre admitió su consumo durante el embarazo se trató de un uso esporádico, por lo que las concentraciones se encontrarían por debajo de los límites de

detección. Sorprendentemente, tanto en el estudio realizado por Gray *et al.* [59] como en el de Cortés *et al.* [57] se encontró una menor prevalencia de drogas y/o sustancias de abuso en la matriz biológica que lo indicado en la entrevista materna. Nuevamente, estos resultados, como bien explican los autores, pueden deberse a un consumo esporádico no detectado en el meconio o a que dicho consumo haya tenido lugar al inicio del embarazo, ya que la ventana de detección del meconio solo abarca el segundo y tercer trimestre del embarazo. En cuanto a la comparativa entre ambos métodos de detección, en el estudio de Pichini *et al.* [29] varía dependiendo de la droga estudiada, siendo solo del 14,5% para opiáceos y del 41,7% para la cocaína, llegando para esta sustancia hasta el 66% de acuerdo en otro estudio [76]. Además, estudiando las drogas de abuso conjuntamente en lugar de individualmente, en el 88% de los casos en los que la madre admitía el consumo de sustancias, el meconio era positivo [8].

En el estudio desarrollado en esta Tesis Doctoral para la detección de la exposición intraútero a tabaco (**Artículo 1**), el análisis de meconio fue más sensible que la entrevista materna (17,7% vs. 13,5%). Esta mayor sensibilidad del meconio concuerda con lo observado en la mayoría de estudios mencionados en la Tabla 5. Además, los resultados en meconio y entrevista materna presentaban buena concordancia ($p < 0,001$), un dato en el que también coinciden otros artículos publicados en los que se estudiaba la exposición prenatal a tabaco [34,36,39,40,62,78,79]. Esta buena concordancia puede deberse a que fumar está socialmente aceptado, por lo que las madres tienen menos miedo a admitir el consumo que en el caso de las drogas ilegales.

Para la detección de la exposición intraútero a psicofármacos (**Artículo 3**) la sensibilidad del meconio y de la información materna (en este caso el historial médico) fue similar para los antidepresivos (5,5% de casos positivos en ambos), mientras que para las benzodiazepinas el historial fue más sensible (33,8%) que el análisis de meconio (16,6%). No obstante, ambos métodos fueron complementarios, ya que aunque el historial médico detectó más casos positivos a benzodiazepinas, el meconio también detectó casos no reportados en el historial. Hasta la fecha solo se ha publicado otro estudio que compara meconio e información materna (obtenida a través de entrevista) para la detección de la exposición a psicofármacos [57]. En este caso, el método más sensible para la detección de neonatos expuestos prenatalmente a sustancias fue la entrevista materna. Esta discrepancia con el método descrito en esta Tesis Doctoral, como ya se explicó anteriormente, puede deberse a un consumo esporádico no detectado en el meconio. En cuanto a la comparativa entre ambos métodos de

detección, en el estudio incluido en esta Tesis Doctoral los resultados del análisis de meconio y del historial médico fueron concordantes en el 60% de los casos para los antidepresivos y en 40,4% para las benzodiazepinas, similar a los resultados reportados por Cortés *et al.* [57] (58,6%).

Por tanto, es de vital importancia que la entrevista materna vaya acompañada del análisis del meconio, ya que permite detectar los casos en los que la madre niega el consumo.

5.3.2. Meconio vs. Pelo materno

Además de la entrevista materna, otro método frecuentemente utilizado a la hora de detectar el consumo de sustancias durante el embarazo es el pelo materno, el cual presenta numerosas ventajas (amplia ventana de detección, recolección fácil y no invasiva, almacenamiento a temperatura ambiente). No obstante, su gran inconveniente es que su análisis no ofrece información directa sobre la exposición fetal, por lo que el análisis del meconio se presenta como una alternativa muy interesante. Comparar los resultados obtenidos en el análisis de meconio con los observados en el análisis de pelo materno permite evaluar la utilidad del meconio en la identificación de la exposición intraútero a drogas y/o sustancias de abuso. Al realizar dicha comparación los resultados deben ser analizados con “cautela” ya que hay múltiples factores que pueden contribuir a las diferencias encontradas entre ambas muestras biológicas como son: las propiedades fisiológicas de las muestras, el paso a través de la placenta del analito de interés o la sensibilidad de la metodología analítica [55].

En el **Artículo 3** de esta Tesis Doctoral el pelo materno fue más sensible que el meconio para la detección de los antidepresivos (24,8% de casos positivos frente a 5,5% en meconio), mientras que para las benzodiazepinas ambas muestras presentaron una sensibilidad similar (15,8% para el pelo y 16,6% para el meconio). Sólo existe otro artículo en el que se comparen estas muestras biológicas para los psicofármacos presentes en esta Tesis Doctoral, un estudio de Cortés *et al.* [57] en el que ambas muestras biológicas presentaban similar sensibilidad a la hora de detectar la exposición a fármacos psicoactivos (1,7% de casos positivos en las muestras de pelo materno y 1,2% en meconio). En cuanto a la comparativa entre ambas muestras, en 6 de los 8 casos en los que el meconio fue positivo a antidepresivos el pelo fue positivo en algún segmento, sin embargo para las benzodiazepinas solo en 9 de los 24 casos en los que el meconio fue positivo, el pelo también lo fue. Mientras que en el estudio de Cortés *et*

al. [57] en todos los casos con muestras positivas en meconio el pelo fue positivo en el segmento correspondiente al segundo y/o tercer trimestre.

Se han publicado otros estudios que comparan el análisis del meconio y del pelo materno para la determinación de la exposición prenatal a otras drogas y/o sustancias de abuso [57,64,80-84]. En la mayoría de estos trabajos se observó que el meconio solo era positivo si el pelo materno también lo era [57,81-84]. En cuanto a la comparativa entre ambos métodos, el estudio realizado por Ostrea *et al.* [64] presentó concordancia significativa ($p < 0,001$) entre el meconio y el pelo materno para detectar la exposición intraútero a cocaína y opiáceos, pero no para THC ($p=0,136$). Además encontraron porcentajes similares de positivos en ambas muestras: 68,7% vs. 78% para la cocaína, 32,2% vs. 33,9% para los opiáceos y 10,2% vs. 13,6% para el THC. En un estudio posterior Ostrea *et al.* [80] compararon varias muestras maternas (pelo y sangre) y neonatales (pelo, sangre del cordón umbilical y meconio) para detectar la exposición fetal a pesticidas ambientales, observando que el meconio fue la matriz más sensible y que cuando éste se combinó con el análisis del pelo materno la detección de exposición prenatal a pesticidas aumentó en casi dos veces.

Por tanto, se puede concluir que, aunque el pelo materno permite la detección del consumo de sustancias de abuso en todas las etapas del embarazo, el análisis del meconio permite obtener información directa sobre la exposición fetal a dichas sustancias. Por ello, el análisis complementario de ambas muestras dará una imagen global del consumo de drogas y/o sustancias de abuso durante el embarazo.

5.4. EFECTOS DE LA EXPOSICIÓN A SUSTANCIAS DE ABUSO DURANTE LA GESTACIÓN

Los efectos negativos de la exposición a drogas y/o sustancias de abuso durante la gestación pueden producirse sobre la mujer embarazada (problemas obstétricos), o sobre el feto (teratogénesis, aborto, retraso del crecimiento) o sobre neonato en el momento del nacimiento e incluso en etapas posteriores de su vida (niñez). Esta Tesis Doctoral se centró en los efectos detectables sobre el neonato en el momento del nacimiento, es decir, se estudió cómo afecta el consumo de tabaco (**Artículo 1**) y psicofármacos (**Artículo 3**) durante el embarazo a los principales parámetros antropométricos neonatales (peso, longitud y perímetro craneal al nacer) y a la puntuación en el test de Apgar. No se han podido realizar estudios sobre los efectos de la exposición prenatal a NPS debido a que no se detectaron muestras positivas a estas sustancias

de abuso. Es de gran importancia, no obstante, tener en cuenta otros factores que pueden afectar a dichos parámetros, como son la diabetes gestacional, la edad gestacional, el sexo del recién nacido y la exposición a otras drogas de abuso. En ambos estudios se observó que solo el sexo y la prematuridad afectaban a las medidas antropométricas neonatales. Como los prematuros se distribuían por igual entre los grupos de expuestos y no expuestos, se excluyeron del estudio. En cuanto a la influencia del sexo, los casos se analizaron por separado para niños y niñas.

En el **Artículo 1** (exposición prenatal a tabaco) se observó que para los varones solo el peso de los recién nacidos expuestos al tabaco fue significativamente menor al de los no expuestos ($p=0,023$). En el caso de las mujeres las diferencias fueron significativas tanto para el peso como para la longitud ($p=0,001$). Los resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral sobre la influencia del bajo peso al nacer de los neonatos expuestos prenatalmente a tabaco coinciden con la mayoría de estudios previos [35,40,62,78,79,85]; de igual manera ocurre con la puntuación en el test de Apgar, ya que ni en el presente estudio ni en el de otros autores [39,62,78] se encontraron diferencias significativas entre expuestos y no expuestos. Todo lo contrario ocurre con la longitud y el perímetro craneal, ya que los resultados de esta Tesis Doctoral no coinciden con los observados en la mayoría de estudios previos, en los que no se observaron diferencias significativas para la longitud [39,62,77,85], pero sí para el perímetro craneal [39,62,78,85]. Estas diferencias entre los resultados de esta Tesis Doctoral y los de otros autores pueden deberse a que solo en el presente estudio se estudiaron las medidas de crecimiento neonatal según el sexo del recién nacido. Asimismo, para descartar la influencia de otras drogas y/o sustancias de abuso en las medidas antropométricas neonatales, se reevaluaron los casos excluyendo los positivos a dichas sustancias. Solo las diferencias en el peso de las niñas siguieron siendo significativas ($p=0.045$), lo que confirma que, como se mencionó anteriormente, es importante tener en cuenta numerosos factores como la exposición prenatal a otras drogas a la hora de realizar este tipo de estudios.

En el estudio de los efectos del consumo de psicofármacos durante el embarazo sobre las medidas antropométricas neonatales, todos los trabajos publicados utilizaron como criterio de positividad los resultados de la entrevista materna y/o del historial médico de la madre [86-92]. Por ello, cabe destacar que el trabajo descrito en esta Tesis Doctoral (**Artículo 3**) es el primero, hasta la fecha, en realizar dicho análisis usando como criterio de positividad los resultados en meconio. En la casuística de dicho trabajo no se encontraron diferencias significativas para ninguno de los parámetros estudiados. Estos resultados concuerdan con los observados por

otros autores para antidepresivos [86,88,90,91], pero no con los estudios realizados sobre la influencia de las benzodiazepinas [87,88,91,92]. No obstante, al excluir los casos positivos a drogas de abuso se encontró que el peso al nacer era significativamente menor en los niños expuestos a benzodiazepinas que en los no expuestos ($p=0,016$), resultado que sí coincide con el de otros autores [87,88].

Por tanto, en líneas generales, no se observó una clara afectación de los parámetros antropométricos en los neonatos expuestos a las sustancias de abuso y/o fármacos estudiados en esta Tesis Doctoral. No obstante, el número de casos estudiados es limitado, por lo que sería recomendable realizar más estudios al respecto para poder obtener unas conclusiones más sólidas.



5.5 BIBLIOGRAFÍA

1. Syme MR, Paxton JW, Keelan JA. Drug transfer and metabolism by the human placenta. *Clin Pharmacokinet*. 2004;43(8):487-514.
<https://doi.org/10.2165/00003088-200443080-00001>
2. Narkowicz S, Płotka J, Polkowska Ż, Biziuk M, Namieśnik J. Prenatal exposure to substance of abuse: a worldwide problem. *Environ Int*. 2013;54:141-163.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.01.011>
3. Ewing G, Tatarchuk Y, Appleby D, Schwartz N, Kim D. Placental transfer of antidepressant medications: implications for postnatal adaptation syndrome. *Clin Pharmacokinet*. 2015;54(4):359-370. <https://doi.org/10.1007/s40262-014-0233-3>
4. Bearer CF. Meconium as a biological marker of prenatal exposure. *Ambul Pediatr*. 2003;3(1):40-43.
[https://doi.org/10.1367/1539-4409\(2003\)003<0040:MAABMO>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1367/1539-4409(2003)003<0040:MAABMO>2.0.CO;2)
5. Gareri J, Klein J, Koren G. Drugs of abuse testing in meconium. *Clin Chim Acta*. 2006;366(1-2):101-111. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2005.10.028>
6. Ortega García JA, Carrizo Gallardo D, Ferrís i Tortajada J, Marco Macián A, Grimalt JO. Meconio y exposición prenatal a neurotóxicos. *Rev Esp Pediatr*. 2004;60(4):291-296
7. Chan D, Klein J, Koren G. New methods for neonatal drug screening. *NeoReviews*. 2003;4(9):e236-e244. <https://doi.org/10.1542/neo.4-9-e236>
8. Ostrea EM, Brady M, Gause S, Raymundo AL, Stevens M. Drug screening of newborns by meconium analysis: a large-scale, prospective, epidemiologic study. *Pediatrics* 1992;89(1):107-113.
9. McMillin GA, Wood KE, Strathmann FG, Krasowski MD. Patterns of drugs and drug metabolites observed in meconium: what do they mean? *Ther Drug Monit*. 2015;37(5):568-580. <https://doi.org/10.1097/FTD.0000000000000181>

10. Woźniak MK, Jaszczak E, Wiergowski M, Polkowska Ż, Namieśnik J, Biziuk M. Meconium analysis as a promising diagnostic tool for monitoring fetal exposure to toxic substances: recent trends and perspectives. *Trac-Trends Anal Chem.* 2018;109:124-141. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.09.025>
11. Pichini S, Morini L, Marchei E, Palmi I, Rotolo MC, Vagnarelli F, et al. Ethylglucuronide and ethylsulfate in meconium to assess gestational ethanol exposure: preliminary results in two Mediterranean cohorts. *Can J Clin Pharmacol.* 2009;16(2):e370-5.
12. López SM, García SP, Velasco MO. Meconio: vehiculo de biomarcadores de exposición a sustancias psicoactivas en gestantes. *Nova.* 2007;5(7). <https://doi.org/10.22490/24629448.377>
13. Chan D, Knie B, Boskovic R, Koren G. Placental handling of fatty acid ethyl esters: perfusion and subcellular studies. *J Pharmacol Exp Ther.* 2004;310(1):75-82. <https://doi.org/10.1124/jpet.104.066597>
14. Ostrea Jr EM, Hernandez JD, Bielawski DM, Kan JM, Leonardo GM, Abela MB, et al. Fatty acid ethyl esters in meconium: are they biomarkers of fetal alcohol exposure and effect? *Alcohol Clin Exp Res.* 2006;30(7):1152-1159. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2006.00131.x>
15. Moore C, Jones J, Lewis D, Buchi K. Prevalence of fatty acid ethyl esters in meconium specimens. *Clin Chem.* 2003;49(1):133-136. <https://doi.org/10.1373/49.1.133>
16. Vaiano F, Favretto D, Palumbo D, Cooper G, Mactier H, Busardò FP, et al. A novel, simultaneous extraction of FAEE and EtG from meconium and analysis by LC-MS/MS. *Anal Bioanal Chem.* 2016;408(10):2587-2594. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9364-8>
17. Cabarcos P, Tabernero MJ, Otero JL, Míguez M, Bermejo AM, Martello S, et al. Quantification of fatty acid ethyl esters (FAEE) and ethyl glucuronide (EtG) in meconium for detection of alcohol abuse during pregnancy: correlation study between both biomarkers. *J Pharm Biomed Anal.* 2014;100:74-78. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.07.023>

18. Morini L, Marchei E, Pellegrini M, Groppi A, Stramesi C, Vagnarelli F, et al. Liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection for the measurement of ethyl glucuronide and ethyl sulfate in meconium: new biomarkers of gestational ethanol exposure? *Ther Drug Monit.* 2008;30(6):725-732.
<https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e31818b2fd9>
19. ElSohly MA, Kopycki W, Feng S, Murphy TP. Identification and analysis of the major metabolites of cocaine in meconium. *J Anal Toxicol.* 1999;23(6):446-451.
<https://doi.org/10.1093/jat/23.6.446>
20. Marin SJ, Coles R, Urry FM, McMillin GA. Confirmation of cannabinoids in meconium using two-dimensional gas chromatography with mass spectrometry detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2007;858(1-2):59-64.
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2007.08.026>
21. Marchei E, Pellegrini M, Pacifici R, Palmi I, Lozano J, García-Algar Ó, et al. Quantification of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and its major metabolites in meconium by gas chromatographic-mass spectrometric assay: assay validation and preliminary results of the "Meconium Project". *Ther Drug Monit.* 2006;28(5):700-706.
<https://doi.org/10.1097/01.ftd.0000245380.95186.13>
22. Lozano J, García-Algar O, Marchei E, Vall O, Monleon T, Giovannandrea RD, et al. Prevalence of gestational exposure to cannabis in a Mediterranean city by meconium analysis. *Acta Paediatr.* 2007;96(12):1734-1737.
<https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2007.00535.x>
23. García-Algar O, Vall Combelles O, Puig Sola C, Mur Sierra A, Scaravelli G, Pacifici R, et al. Exposición prenatal a drogas de abuso a través del análisis de meconio en una población de bajo nivel socioeconómico en Barcelona. *An. Pediatr.* 2009;70(2):151-158. <https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2008.08.008>
24. Concheiro M, Gutierrez FM, Ocampo A, Lendoiro E, González-Colmenero E, Concheiro-Guisán A, et al. Assessment of biological matrices for the detection of in utero cannabis exposure. *Drug Test Anal.* 2021. <https://doi.org/10.1002/dta.3034>

25. Xia Y, Wang P, Bartlett MG, Solomon HM, Busch KL. An LC– MS– MS Method for the Comprehensive Analysis of Cocaine and Cocaine Metabolites in Meconium. *Anal Chem.* 2000;72(4):764-771. <https://doi.org/10.1021/ac990201p>
26. Gray TR, Shakleya DM, Huestis MA. A liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the simultaneous quantification of 20 drugs of abuse and metabolites in human meconium. *Anal Bioanal Chem.* 2009;393(8):1977. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-2680-5>
27. Oyler J, Darwin WD, Preston KL, Suess P, Cone EJ. Cocaine disposition in meconium from newborns of cocaine-abusing mothers and urine of adult drug users. *J Anal Toxicol.* 1996;20(6):453-462. <https://doi.org/10.1093/jat/20.6.453>
28. Lewis DE, Moore CM, Leikin JB. Cocaethylene in meconium specimens. *J Toxicol Clin Toxicol.* 1994;32(6):697-703. <https://doi.org/10.3109/15563659409017976>
29. Pichini S, Puig C, Zuccaro P, Marchei E, Pellegrini M, Murillo J, et al. Assessment of exposure to opiates and cocaine during pregnancy in a Mediterranean city: preliminary results of the “Meconium Project”. *Forensic Sci Int.* 2005;153(1):59-65. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2005.04.013>
30. Gray TR, Kelly T, LaGasse LL, Smith LM, Derauf C, Haning W, et al. Novel biomarkers of prenatal methamphetamine exposure in human meconium. *Ther Drug Monit.* 2009;31(1):70-75. <https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e318195d7cb>
31. Madej KA. Analysis of meconium, nails and tears for determination of medicines and drugs of abuse. *Trac-Trends Anal Chem.* 2010;29(3):246-259. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2010.01.005>
32. Moffat AC, Osselton MD, Widdop B, Watts J. Clarke’s Analysis of Drugs and Poisons, 4th edition. London: Pharmaceutical Press; 2011.
33. Dempsey D, Moore C, Deitermann D, Lewis D, Feeley B, Niedbala RS. The detection of cotinine in hydrolyzed meconium samples. *Forensic Sci Int.* 1999;102(2-3):167-171. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(99\)00052-3](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(99)00052-3)
34. Derauf C, Katz AR, Easa D. Agreement between maternal self-reported ethanol intake and tobacco use during pregnancy and meconium assays for fatty acid ethyl esters and cotinine. *Am J Epidemiol.* 2003;158(7):705-709. <https://doi.org/10.1093/aje/kwg215>

35. Sherif NA, Kamel SM, Al Ashkar OS, Sharaki OA, Seif EA, Hegazy EA. Detection of cotinine in neonate meconium as a marker for nicotine exposure in utero. *East Mediterr Health J.* 2004;10 (1-2), 96-105.
36. Köhler E, Avenarius S, Rabsilber A, Gerloff C, Jorch G. Assessment of prenatal tobacco smoke exposure by determining nicotine and its metabolites in meconium. *Hum Exp Toxicol.* 2007;26(6):535-544. <https://doi.org/10.1177/0960327107072391>
37. Gray TR, Shakleya DM, Huestis MA. Quantification of nicotine, cotinine, trans-3'-hydroxycotinine, nornicotine and norcotinine in human meconium by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2008;863(1):107-114. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2008.01.001>
38. Xia Y, Xu M, Alexander RR, Bernert JT. Measurement of nicotine, cotinine and trans-3'-hydroxycotinine in meconium by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2011;879(22):2142-2148. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.05.054>
39. Gray TR, Magri R, Shakleya DM, Huestis MA. Meconium nicotine and metabolites by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: differentiation of passive and nonexposure and correlation with neonatal outcome measures. *Clin Chem.* 2008;54(12):2018-2027. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.109173>
40. Braun JM, Daniels JL, Poole C, Olshan AF, Hornung R, Bernert JT, et al. A prospective cohort study of biomarkers of prenatal tobacco smoke exposure: the correlation between serum and meconium and their association with infant birth weight. *Environ Health.* 2010;9(1):1-11. <https://doi.org/10.1186/1476-069X-9-53>
41. Ait-Daoud N, Hamby AS, Sharma S, Blevins D. A review of alprazolam use, misuse, and withdrawal. *J Addict Med.* 2018;12(1):4-10. <https://doi.org/10.1097/ADM.0000000000000350>
42. Loughhead AM, Stowe ZN, Newport DJ, Ritchie JC, DeVane CL, Owens MJ. Placental passage of tricyclic antidepressants. *Biol Psychiatry.* 2006;59(3):287-290. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.06.040>

43. Heikkinen T, Ekblad U, Laine K. Transplacental transfer of citalopram, fluoxetine and their primary demethylated metabolites in isolated perfused human placenta. *BJOG*. 2002;109(9):1003-1008. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2002.01467.x>
44. Hendrick V, Stowe ZN, Altshuler LL, Hwang S, Lee E, Haynes D. Placental passage of antidepressant medications. *Am J Psychiatry*. 2003;160(5):993-996. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.160.5.993>
45. Kelly JP. Cathinone derivatives: a review of their chemistry, pharmacology and toxicology. *Drug Test Anal*. 2011;3(7-8):439-453. <https://doi.org/10.1002/dta.313>
46. Strange LG, Kochelek K, Keasling R, Brown SD, Pond BB. The pharmacokinetic profile of synthetic cathinones in a pregnancy model. *Neurotoxicol Teratol*. 2017;63:9-13. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2017.08.001>
47. ElSohly MA, Feng S. Δ^9 -THC metabolites in meconium: identification of 11-OH- Δ^9 -THC, 8 β , 11-diOH- Δ^9 -THC, and 11-nor- Δ^9 -THC-9-COOH as major metabolites of Δ^9 -THC. *J Anal Toxicol*. 1998;22(4):329-335. <https://doi.org/10.1093/jat/22.4.329>
48. Gray TR, Barnes AJ, Huestis MA. Effect of hydrolysis on identifying prenatal cannabis exposure. *Anal Bioanal Chem*. 2010;397(6):2335-2347. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-3772-y>
49. Becker J, Moore C, Lewis D, Leikin J. Morphine detection in meconium: Hydrolyzed v. nonhydrolyzed specimens *Clin Chem*. 1995;41:S114
50. Adamowicz P, Hydzik P. Fetal death associated with the use of 3, 4-MDPHP and α -PHP. *Clin Toxicol*. 2019;57(2):112-116. <https://doi.org/10.1080/15563650.2018.1502443>
51. Pichini S, Rotolo MC, García J, Girona N, Leal L, García-Algar O, et al. Neonatal withdrawal syndrome after chronic maternal consumption of 4-methylethcathinone. *Forensic Sci Int*. 2014;245:e33-e35. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2014.10.027>
52. Anizan S, Ellefsen K, Concheiro M, Suzuki M, Rice KC, Baumann MH, et al. 3, 4-Methylenedioxypropylvalerone (MDPV) and metabolites quantification in human and rat plasma by liquid chromatography–high resolution mass spectrometry. *Anal Chim Acta*. 2014;827:54-63. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.04.015>

53. Ellefsen KN, Concheiro M, Huestis MA. Synthetic cathinone pharmacokinetics, analytical methods, and toxicological findings from human performance and postmortem cases. *Drug Metab Rev.* 2016;48(2):237-265.
<https://doi.org/10.1080/03602532.2016.1188937>
54. Moore C, Negrusz A, Lewis D. Determination of drugs of abuse in meconium. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1998;713(1):137-146.
[https://doi.org/10.1016/s0378-4347\(97\)00479-9](https://doi.org/10.1016/s0378-4347(97)00479-9)
55. Wabuye SL, Colby JM, McMillin GA. Detection of drug-exposed newborns. *Ther Drug Monit.* 2018;40(2):166-185. <https://doi.org/10.1097/FTD.0000000000000485>
56. Ostrea Jr EM, Romero A, Knapp DK, Ostrea AR, Lucena JE, Utarnachitt RB. Postmortem drug analysis of meconium in early-gestation human fetuses exposed to cocaine: clinical implications. *J Pediatr.* 1994;124(3):477-479.
[https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(94\)70379-5](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(94)70379-5)
57. Cortes L, Almeida L, Sabra S, Muniesa M, Busardo FP, Garcia-Algar O, et al. Maternal hair and neonatal meconium to assess gestational consumption and prenatal exposure to drugs of abuse and psychoactive drugs. *Curr Pharm Biotechnol.* 2018;19(2):136-143. <https://doi.org/10.2174/1389201019666180405163612>
58. Himes SK, Tassiopoulos K, Yogev R, Huestis MA, Pediatric HIV/AIDS Cohort Study (PHACS). Antiretroviral drugs in meconium: detection for different gestational periods of exposure. *J Pediatr.* 2015;167(2):305-311. e3.
<https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2015.04.062>
59. Gray TR, LaGasse LL, Smith LM, Derauf C, Grant P, Shah R, et al. Identification of prenatal amphetamines exposure by maternal interview and meconium toxicology in the Infant Development, Environment and Lifestyle (IDEAL) study. *Ther Drug Monit.* 2009;31(6):769. <https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e3181bb438e>
60. Gray TR, Kelly T, LaGasse LL, Smith LM, Derauf C, Grant P, et al. New meconium biomarkers of prenatal methamphetamine exposure increase identification of affected neonates. *Clin Chem.* 2010;56(5):856-860.
<https://doi.org/10.1373/clinchem.2009.139055>

61. Kacinko SL, Jones HE, Johnson RE, Choo RE, Huestis MA. Correlations of maternal buprenorphine dose, buprenorphine, and metabolite concentrations in meconium with neonatal outcomes. *Clin Pharmacol Ther.* 2008;84(5):604-612.
<https://doi.org/10.1038/clpt.2008.156>
62. Gray TR, Eiden RD, Leonard KE, Connors G, Shisler S, Huestis MA. Nicotine and metabolites in meconium as evidence of maternal cigarette smoking during pregnancy and predictors of neonatal growth deficits. *Nicotine Tob Res.* 2010;12(6):658-664.
<https://doi.org/10.1093/ntr/ntq068>
63. Ristimaa J, Gergov M, Pelander A, Halmesmäki E, Ojanperä I. Broad-spectrum drug screening of meconium by liquid chromatography with tandem mass spectrometry and time-of-flight mass spectrometry. *Anal Bional Chem.* 2010;398(2):925-935.
<https://doi.org/10.1007/s00216-010-3942-y>
64. Ostrea Jr EM, Knapp DK, Tannenbaum L, Ostrea AR, Romero A, Salari V, et al. Estimates of illicit drug use during pregnancy by maternal interview, hair analysis, and meconium analysis. *J Pediatr.* 2001;138(3):344-348.
<https://doi.org/10.1067/mpd.2001.111429>
65. Ostrea EM, Knapp DK, Romero A, Montes M, Ostrea AR. Meconium analysis to assess fetal exposure to nicotine by active and passive maternal smoking. *J Pediatr.* 1994;124(3):471-476. [https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(94\)70378-7](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(94)70378-7)
66. Baranowski J, Pochopień G, Baranowska I. Determination of nicotine, cotinine and caffeine in meconium using high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1998;707(1):317-321.
[https://doi.org/10.1016/s0378-4347\(97\)00619-1](https://doi.org/10.1016/s0378-4347(97)00619-1)
67. Marin SJ, Christensen RD, Baer VL, Clark CJ, McMillin GA. Nicotine and metabolites in paired umbilical cord tissue and meconium specimens. *Ther Drug Monit.* 2011;33(1):80-85. <https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e3182055f14>
68. Sant'Anna SG, Oliveira CDR, Diniz, Edna Maria de Albuquerque, Yonamine M. Accelerated solvent extraction for gas chromatographic analysis of nicotine and cotinine in meconium samples. *J Anal Toxicol.* 2012;36(1):19-24.
<https://doi.org/10.1093/jat/bkr011>

69. Mozaner Bordin DC, Alves MN, Cabrices OG, de Campos EG, De Martinis BS. A rapid assay for the simultaneous determination of nicotine, cocaine and metabolites in meconium using disposable pipette extraction and gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS). *J Anal Toxicol*. 2014;38(1):31-38.
<https://doi.org/10.1093/jat/bkt092>
70. Marin SJ, Coles R, Merrell M, McMillin GA. Quantitation of benzodiazepines in urine, serum, plasma, and meconium by LC-MS-MS. *J Anal Toxicol*. 2008;32(7):491-498.
<https://doi.org/10.1093/jat/32.7.491>
71. Pichini S, Cortes L, Marchei E, Solimini R, Pacifici R, Gomez-Roig MD, et al. Ultra-high-pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry determination of antidepressant and anxiolytic drugs in neonatal meconium and maternal hair. *J Pharm Biomed Anal*. 2016;118:9-16. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.10.016>
72. Ostrea Jr EM, Matias O, Keane C, Mac E, Utarnachitt R, Ostrea A, et al. Spectrum of gestational exposure to illicit drugs and other xenobiotic agents in newborn infants by meconium analysis. *J Pediatr*. 1998;133(4):513-515.
[https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(98\)70059-9](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(98)70059-9)
73. Bar-Oz B, Klein J, Karaskov T, Koren G. Comparison of meconium and neonatal hair analysis for detection of gestational exposure to drugs of abuse. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2003;88(2):F98-F100. <https://doi.org/10.1136/fn.88.2.f98>
74. García-Algar O, López-Vílchez MA, Martín I, Mur A, Pellegrini M, Pacifici R, et al. Confirmation of gestational exposure to alprazolam by analysis of biological matrices in a newborn with neonatal sepsis. *Clin Toxicol*. 2007;45(3):295-298.
<https://doi.org/10.1080/15563650601072191>
75. Nemeškalová A, Bursová M, Sýkora D, Kuchař M, Čabala R, Hložek T. Salting out assisted liquid-liquid extraction for liquid chromatography tandem-mass spectrometry determination of amphetamine-like stimulants in meconium. *J Pharm Biomed Anal*. 2019;172:42-49. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.04.036>
76. Lester BM, ElSohly M, Wright LL, Smeriglio VL, Verter J, Bauer CR, et al. The Maternal Lifestyle Study: drug use by meconium toxicology and maternal self-report. *Pediatrics*. 2001;107(2):309-317. <https://doi.org/10.1542/peds.107.2.309>

77. Ostrea EM, Villanueva-Uy E, Ngercham S, Punnakanta L, Batilando MJ, Agarwal P, et al. An epidemiologic study comparing fetal exposure to tobacco smoke in three Southeast Asian countries. *Int J Occup Environ Health*. 2008;14(4):257-262.
<https://doi.org/10.1179/oeh.2008.14.4.257>
78. Himes SK, Stroud LR, Scheidweiler KB, Niaura RS, Huestis MA. Prenatal tobacco exposure, biomarkers for tobacco in meconium, and neonatal growth outcomes. *J Pediatr*. 2013;162(5):970-975. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2012.10.045>
79. Tsinisizeli N, Sotiroidis G, Xenakis A, Lykeridou KE. Determination of nicotine and cotinine in meconium from Greek neonates and correlation with birth weight and gestational age at birth. *Chemosphere*. 2015;119:1200-1207.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.09.094>
80. Ostrea Jr EM, Bielawski DM, Posecion Jr NC, Corrion M, Villanueva-Uy E, Bernardo RC, et al. Combined analysis of prenatal (maternal hair and blood) and neonatal (infant hair, cord blood and meconium) matrices to detect fetal exposure to environmental pesticides. *Environ Res*. 2009;109(1):116-122.
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2008.09.004>
81. Concheiro M, González-Colmenero E, Lendoiro E, Concheiro-Guisán A, de Castro A, Cruz-Landeira A, et al. Alternative matrices for cocaine, heroin, and methadone in utero drug exposure detection. *Ther Drug Monit*. 2013;35(4):502-509.
<https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e31828a6148>
82. Joya X, Marchei E, Salat-Batlle J, García-Algar O, Calvaresi V, Pacifici R, et al. Fetal exposure to ethanol: relationship between ethyl glucuronide in maternal hair during pregnancy and ethyl glucuronide in neonatal meconium. *Clin Chem Lab Med*. 2016;54(3):427-435. <https://doi.org/10.1515/cclm-2015-0516>
83. Joya X, Marchei E, Salat-Batlle J, García-Algar O, Calvaresi V, Pacifici R, et al. Drugs of abuse in maternal hair and paired neonatal meconium: an objective assessment of foetal exposure to gestational consumption. *Drug Test Anal*. 2016;8(8):864-868.
<https://doi.org/10.1002/dta.1921>

84. Concheiro M, Lendoiro E, de Castro A, González-Colmenero E, Concheiro-Guisan A, Peñas-Silva P, et al. Bioanalysis for cocaine, opiates, methadone, and amphetamines exposure detection during pregnancy. *Drug Test Anal.* 2017;9(6):898-904. <https://doi.org/10.1002/dta.2087>
85. Shisler S, Eiden RD, Molnar DS, Schuetze P, Huestis M, Homish G. Smoking in pregnancy and fetal growth: the case for more intensive assessment. *Nicotine Tob Res.* 2017;19(5):525-531. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntx018>
86. Hendrick V, Smith LM, Suri R, Hwang S, Haynes D, Altshuler L. Birth outcomes after prenatal exposure to antidepressant medication. *Obstet Gynecol.* 2003;188(3):812-815. <https://doi.org/10.1067/mob.2003.172>
87. Wikner BN, Stiller C, Bergman U, Asker C, Källén B. Use of benzodiazepines and benzodiazepine receptor agonists during pregnancy: neonatal outcome and congenital malformations. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2007;16(11):1203-1210. <https://doi.org/10.1002/pds.1457>
88. Calderon-Margalit R, Qiu C, Ornoy A, Siscovick DS, Williams MA. Risk of preterm delivery and other adverse perinatal outcomes in relation to maternal use of psychotropic medications during pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2009;201(6):579. e1-579. e8. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2009.06.061>
89. Lewis AJ, Galbally M, Opie G, Buist A. Neonatal growth outcomes at birth and one month postpartum following in utero exposure to antidepressant medication. *Aust N Z J Psychiatry.* 2010;44(5):482-487. <https://doi.org/10.3109/00048670903559593>
90. Sahingöz M, Yuksel G, Karsidag C, Uguz F, Sonmez EO, Annagur BB, et al. Birth weight and preterm birth in babies of pregnant women with major depression in relation to treatment with antidepressants. *J Clin Psychopharmacol.* 2014;34(2):226-229. <https://doi.org/10.1097/JCP.0000000000000077>
91. Ogawa Y, Takeshima N, Furukawa TA. Maternal exposure to benzodiazepine and risk of preterm birth and low birth weight: A case-control study using a claims database in Japan. *Asia Pac Psychiatry.* 2018;10(3):e12309. <https://doi.org/10.1111/appy.12309>

92. Freeman MP, Góez-Mogollón L, McInerney KA, Davies AC, Church TR, Sosinsky AZ, et al. Obstetrical and neonatal outcomes after benzodiazepine exposure during pregnancy: Results from a prospective registry of women with psychiatric disorders. *Gen Hosp Psychiatry*. 2018;53:73-79.

<https://doi.org/10.1016/j.genhosppsy.2018.05.010>



6. CONCLUSIONS

1. Three sensitive and specific LC–MS/MS analytical methods for the determination of nicotine and its main metabolites, benzodiazepines, antidepressants and most of their main metabolites, and six common synthetic cathinones in meconium were developed and fully validated with satisfactory results. The LOQs ranged from 1 to 20 ng/g, depending on the analyte.
2. The developed methods showed to be clinically applicable, as it was possible to detect fetal exposure to tobacco and/or psychoactive drugs during pregnancy in real meconium specimens. Meconium analysis primarily reflects third trimester *in utero* drug exposure.
3. Meconium analysis showed to be more sensitive than maternal interview to detect tobacco *in utero* exposure. Regarding psychoactive drugs, for antidepressants the sensitivity was the same for both detection methods, while for benzodiazepines medical records were more sensitive than meconium analysis.
4. Maternal hair was more sensitive than meconium for the detection of *in utero* psychoactive drugs exposure. Nevertheless, meconium detected some cases for which maternal hair was negative, so both biological matrices seem to be complementary. In addition, as meconium analysis allows the detection of direct fetal exposure to psychoactive drugs, the analysis of both samples is advisable.
5. Effects of *in utero* exposure to the evaluated substances was not clear, being neonatal weight the only parameter that was affected by some of the studied substances (tobacco and benzodiazepines).



7. ANEXOS

A continuación se adjuntan los Anexos de esta Tesis Doctoral correspondientes a:

- Anexo 1. Material Suplementario de Artículo 1
- Anexo 2. Material Suplementario de Artículo 2
- Anexo 3. Material Suplementario de Artículo 3
- Anexo 4. Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia
- Anexo 5. Comité de Bioética de la Universidad de Santiago de Compostela.



ANEXO 1. MATERIAL SUPLEMENTARIO

ARTÍCULO 1

Material Suplementario disponible en: <https://doi.org/10.1093/jat/bkaa027>





ANEXO 2. MATERIAL SUPLEMENTARIO

ARTÍCULO 2

Material Suplementario disponible en: <https://doi.org/10.1093/jat/bkaa012>





ANEXO 3. MATERIAL SUPLEMENTARIO

ARTÍCULO 3

Material Suplementario disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11419-021-00576-9>





ANEXO 4.

COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN

CLÍNICA DE GALICIA







DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE GALICIA

Dña. Paula M. López Vázquez, Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia

CERTIFICA:

Que este Comité evaluó en su reunión del día 15/06/2011 el estudio:

Título: Exposición intraútero a drogas: Nuevos métodos de detección y consecuencias en la salud del recién nacido

Promotor: Ana Concheiro Guisán

Version:

Código do Promotor:

Código de Registro CEIC de Galicia: 2011/203

Y que este Comité de conformidad con sus Procedimientos Normalizados de Trabajo y tomando en cuenta los requisitos éticos, metodológicos y legales exigibles a los estudios de investigación con seres humanos, sus muestras o registros, emite un **DICTAMEN FAVORABLE** al estudio propuesto y que se llevará a cabo en:

Centros	Investigadores principales
C.H. Universitario de Vigo (Hospital Xeral-Cíes)	Ana Concheiro Guisán

En Santiago de Compostela a 20 de junio de 2011

La Secretaria



Paula M. López Vázquez



ANEXO 5.

**COMITÉ DE BIOÉTICA DE LA UNIVERSIDAD
DE SANTIAGO DE COMPOSTELA**





MARIA DEL MAR YLLERA FERNÁNDEZ , PROFESORA TITULAR Y PRESIDENTA DEL
COMITÉ DE BIOÉTICA DE LA UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA,

INFORMA:

Que de acuerdo con lo establecido en el artículo 23 (2d)de la resolución de 20 de diciembre de 2010, (B.O.E. del 21-12-10) por la que se convocan ayudas para la realización de proyectos de investigación y acciones complementarias dentro del Programa Nacional de Proyectos de Investigación Fundamental, en el marco del VI Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica 2008-2011 el proyecto de esta Universidad titulado: **“A placenta e o cordón umbilical no estudo da exposición intra-útero a alcohol, drogas e fármacos de abuso ”** y del que es Investigador Principal el profesor/a de la Universidad D./Dña **Marta Concheiro Guisán** ha sido examinado por el Comité de Bioética de esta Universidad, reunido el veintiseis de enero del presente año, cumpliendo en su protocolo experimental los requisitos exigidos.

Y para que así conste se expide el presente documento en Santiago de Compostela a veintiseis de enero del año dos mil once.



M^a del Mar Yllera

