

EL CONSUMO MATERNO DE ALCOHOL Y SUS EFECTOS SOBRE EL APRENDIZAJE Y LA EXPRESIÓN DEL NMDA EN CRÍAS DE LA RATA WISTAR

José Arturo Bríñez-Horta*
 Raul Oyuela -Vargas**
 Leonardo Lareo***
 Diana Carolina Hernández-Forero****
 Mónica Paola Rivas-Barbosa*****

RESUMEN

El consumo de alcohol durante el embarazo es un problema de salud mundial. Esta investigación evaluó la influencia del consumo prenatal de esta sustancia sobre un aprendizaje de discriminación y la expresión del NMDA en las crías de la rata Wistar. Se estudiaron 24 crías, 12 machos y 12 hembras, entre 2 – 3 meses de edad, hijas de madres que consumieron etanol durante la pregestación, la gestación, la lactancia, o durante sus diversas combinaciones. Se utilizó un diseño factorial multivariado. Los resultados mostraron diferencias significativas en el número de sesiones, de errores cometidos, en el tiempo invertido en el aprendizaje y en el nivel de expresión del NMDA de las crías, generadas por el período de consumo en sus madres; y en la expresión del NMDA, asociado al sexo, con niveles de confianza e” al 95 %. Es importante notar la influencia que ejerció principalmente el consumo del alcohol durante la pregestación más la lactancia sobre el aprendizaje, incrementando significativamente el número de sesiones y el número de errores, y la fuerte influencia del consumo durante la gestación sobre los procesos biológicos, pues todas las crías murieron antes del entrenamiento. (Duazary 2007; 1: 3 - 13)

Palabras clave: Consumo de Alcohol, Efectos Demorados de la Exposición Prenatal, Aprendizaje en Discriminación, N-Metil-D-Aspartato.

ABSTRACT

The alcohol intake during pregnancy is nowadays an increasing social problem. The present study examined the alcohol prenatal exposure delayed effects on a discrimination learning and NMDA receptor expression in Wistar adolescent offspring. The biological deleterious effects of alcohol intake during pregnancy were stressed, as well as the cognitive consequences of its intake during pre and perinatal periods.

Key Words: Alcohol Consumption, Prenatal Exposure Delayed Effects, Discrimination Learning, N-Methyl-D-Aspartate.

* Profesor Facultad de psicología, Universidad Javeriana-Bogotá. Estudios de Maestría en Farmacología conductual, FES Iztacala, UNAM-México. artubrinez@gmail.com jbrinez@javeriana.edu.co

** Profesor Facultad de psicología, Universidad Javeriana-Bogotá. Magister en Filosofía, PUJ-Bogotá.

*** Profesor Facultad de Ciencias, Universidad Javeriana-Bogotá. PhD en Ciencias, PUJ-Bogotá.

**** Psicóloga egresada de la Facultad de Psicología, PUJ-Bogotá. Especialista en Evaluación e Intervención de Trastornos Emocionales y Afectivos, FULK.

***** Psicóloga egresada de la Facultad de Psicología, PUJ-Bogotá.

Proyecto financiado por la Vicerrectoría Académica de la Universidad Javeriana de Bogotá.

Recibido para publicación el 12 de marzo de 2007 y Aceptado para publicación el 02 de mayo de 2007.

INTRODUCCIÓN

EFFECTOS TERATOGÉNICOS DEL ALCOHOL

Los efectos teratogénicos del alcohol en los humanos se han clasificado en 2 grandes grupos: *El Síndrome Fetal Alcohólico* (SFA o FAS), embriofetopatía alcohólica o Embriopatología Alcohólica, y los *Efectos Fetales del Alcohol* (EFA o FAE). El SFA hace referencia al daño fetal severo producido por el alcohol o sus metabolitos y representa un desorden verificable clínicamente, caracterizado por rasgos directamente observables, cuantificables y consistentes. Comprende un patrón de deficiencias físicas estructurales, neuroconductuales y sociales que se desarrollan en algunos neonatos cuyas madres han bebido alcohol durante su gestación¹. Si una mujer embarazada consume bebidas alcohólicas y no se manifiestan en el bebé la totalidad de los efectos que caracterizan al SFA, éstos se clasifican dentro de los EFA. Las personas que padecen este síndrome pueden estar tan afectadas psicológicamente como aquellos que padecen SFA².

A pesar de que actualmente no existe una distinción clara entre el SFA y los EFA, estos dos síndromes se caracterizan por ser congénitos, previsibles, con signos permanentes, algunos de los cuales se manifiestan progresiva y regresivamente a lo largo de la vida, sin que todos sean observables en los sujetos que los padecen³.

Los signos y síntomas del SFA se manifiestan como *faciales, esqueléticos, orgánicos, neurales, del desarrollo, neuroconductuales, emocionales y sociales*^{4, 5, 6, 7}.

Cuando este síndrome está asociado a la evidencia del consumo materno durante la gestación se define, también, como *SFA con exposición confirmada al alcohol por la madre durante la gestación, o SFA categoría 1*. Cuando no ocurren todos los signos del SFA descritos anteriormente, con excepción de algunas anomalías faciales, el retardo en el crecimiento y algunas anormalidades en el neurodesarrollo y el consumo prenatal del alcohol no está plenamente confirmado, el síndrome se define como *SFA sin confirmación plena de exposición maternal al alcohol o SFA categoría 2*. En otras ocasiones, ocurren sólo algunas de las manifestaciones del síndrome con confirmación del consumo materno del alcohol; en estos casos se diagnostica *SFA con exposición confirmada del consumo materno prenatal*. Cuando la madre tiene una historia de consumo de

alcohol, pero no existe confirmación de su consumo durante la gestación, se habla, entonces, de *Defectos de Nacimiento Relacionados con el Alcohol, DNRA (ARBD)*, o *Desórdenes del Neuro - Desarrollo Relacionados con el Alcohol, DNDRA (ARND)*, según los efectos se manifiesten sólo en anomalías congénitas o se extiendan a anormalidades evidentes en el neurodesarrollo o neuroconductuales^{8, 9}.

Entre las principales alteraciones neuroconductuales que caracterizan a los niños diagnosticados dentro de estas categorías figuran: microcefalia, agenesia total o parcial del cuerpo calloso, hipoplasia cerebelar, dificultades en la motricidad fina, pérdida auditiva neurosensorial, dificultades en la coordinación ojo - mano y al caminar, dificultades cognitivas inconsistentes con su nivel de desarrollo no explicables por factores familiares o medioambientales, deficiencias en el desempeño escolar, especialmente en el aprendizaje secuencial, control pobre de los impulsos, problemas de percepción social, dificultades en el lenguaje receptivo y expresivo, poca capacidad de abstracción, dificultades con la matemática y problemas de atención, memoria y juicio, dificultades para interactuar socialmente y para internalizar valores familiares y sociales^{1, 7, 10}.

Posibles acciones del alcohol sobre el feto.

- Weinberg (1993)¹¹ presenta una revisión general de los estudios que han mostrado que la exposición prenatal al alcohol afecta la hormona del crecimiento (GH), el eje hipotálamo-hipófisis-tiroides, el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, el eje hipotálamo-hipófisis-adrenales, el sistema beta-endorfínico y el balance endocrino fetal.
- En cuanto al *eje hipotálamo-hipófisis-tiroides*, existen estudios con humanos que han hallado niveles normales de la hormona estimulante de la tiroides (TSH) y de las hormonas tiroideas T₃ y T₄ en niños con SFA; pero también existen otros que han encontrado niveles séricos de T₄ bajos en estos niños. En animales de laboratorio, la exposición prenatal al alcohol altera la función tiroidea especialmente durante el período fetal y durante los primeros días posteriores al nacimiento: se ha observado retraso en el crecimiento de la glándula tiroides en ratas expuestas prenatalmente al etanol.
- Las alteraciones producidas sobre el *eje hipotálamo-hipófisis-gónadas* se manifiestan en modificaciones morfológicas y hormonales en los testículos fetales de las ratas, que poseen menor número de células de Leydig y de vacuolas en los tubos seminíferos.



Además, los testículos de estos fetos son insensibles a la estimulación de la HL. En algunos casos no ocurre la liberación de testosterona, inclusive después del nacimiento¹². La exposición prenatal al alcohol también reduce el peso de los testículos, de la próstata y de las vesículas seminales, altera las respuestas de las neuronas catecolaminérgicas hipotalámicas a la retroalimentación negativa de la testosterona, acorta la distancia ano-genital, incrementa la latencia de la conducta de monta, decrementa la frecuencia de intromisión del pene y reduce el volumen del núcleo sexual dimórfico del área preóptica hipotalámica en ratas machos con SFA. En las crías hembras la exposición prenatal al alcohol demora la apertura vaginal y la menarquia, también reduce la distancia ano-genital, incrementa los niveles plasmáticos de prolactina y decrementa los de LH inclusive durante la edad adulta, incrementa la sensibilidad a las gonadotropinas, aumenta el peso de los ovarios y el número de los folículos y modifica la conducta materna: las madres construyen mal los nidos, las conductas postparto se alteran y se induce conducta materna en las ratas vírgenes^{11, 12, 13}.

- En el *eje hipotálamo-hipófisis-glándulas adrenales* la exposición prenatal al alcohol produce, en las ratas madres, aumento del peso de las suprarrenales e incremento de los niveles basales de corticosterona. En las crías, eleva los niveles plasmáticos y cerebrales de corticosterona y reduce el contenido de beta-endorfinas en la hipófisis durante el período perinatal. Durante el período del destete, los estímulos estresantes no incrementan los niveles de corticoides ni de beta-endorfinas en las crías y tampoco se forma el complejo corticosterona-globulina durante la primera semana de vida. Estos efectos son reversibles después de la tercera semana, pero los animales con SFA mantienen prolongado el alto nivel de corticoides producidos por el estrés, sugiriendo que igualmente el sistema hipotálamo-hipófisis-adrenales continúa disfuncional después del destete. Estos datos son acordes con las observaciones conductuales de que las crías de ratas expuestas prenatalmente al alcohol no responden al estrés en los primeros días de su vida y se hacen hiper-reativas después del destete¹¹.
- Varios hechos demostrados desde la neurobioquímica son la sensibilidad del receptor ionotrópico de glutamato activado por N-metil-D-aspartato (NMDA) al alcohol^{14, 15, 16, 17}, así como su participación indispensable en los procesos de aprendizaje y memoria¹⁸.

EL SFA Y LOS EFA EN COLOMBIA

No se han encontrado datos estadísticos oficiales acerca de la incidencia del SFA o de los EFA en Colombia. Bríñez (2000) en un estudio preliminar, encontró que los hijos escolares de madres que reportaron que consumían alcohol durante sus embarazos presentaban dificultades en la discriminación de estímulos táctiles, en el reconocimiento háptico y en varios procesos de percepción visual, como en el reconocimiento de dibujos y en el diseño y reproducción de cubos. En otro estudio con mujeres jóvenes embarazadas de Bogotá (2003) encontró que el 48.9% de una muestra de niñas escolares embarazadas, el 26.7% de niñas de la calle embarazadas y el 24.4% de mujeres jóvenes también embarazadas de la población general consumían alcohol durante su embarazo^{19, 20}.

Esta conjunción de resultados indicó la necesidad de evaluar el efecto del alcohol sobre la expresión, o concentración en el cerebro de las crías de madres consumidoras de alcohol como una posible fuente de algunas de las variaciones en los procesos cognoscitivos de las crías de madres consumidoras de alcohol. Para esto, se administró alcohol a ratas madres en diferentes períodos de su vida materna y se estudiaron sus efectos en algunas respuestas biológicas y psicológicas de sus crías.

Así pues, esta investigación buscó evaluar los efectos del consumo materno de alcohol durante la pregestación, la gestación y la lactancia sobre un aprendizaje en discriminación olfativa y la expresión cerebral del NMDA, en crías Wistar entre 2 – 3 meses de edad.

MATERIALES Y MÉTODOS

SUJETOS

Se evaluaron 24 ratas Wistar, entre 2 – 4 meses de edad, 12 machos y 12 hembras, crías de 48 grupos de madres hembras, 6 por condición experimental (Tabla 1). Las madres se sometieron a un programa reproductivo mediante cruzamiento poligámico dentro del laboratorio de investigación.

INSTRUMENTOS

Se utilizaron 10 recipientes de plexiglás de 6 cm. de altura por 6 cm. de diámetro y 4 onzas de capacidad, llenos de arenilla lavada, en la que se introdujeron las esencias que las crías debían reconocer y discriminar.



Estos recipientes se colocaron en 3 bases de plexiglás con un área de 17 cm. de largo x 9 cm. de ancho y 4 cm. de altura²¹. Las sustancias para la experimentación fueron alcohol absoluto, no – reactivo, para consumo humano; sacarosa y esencias artificiales de girasol, mandarina, madera, manzana y fresa. Para el pre-entrenamiento se utilizaron esencias de coco y de limón. El alcohol se preparó a una concentración del 20% v/v en una solución de sacarosa al 2% w/v²².

DISEÑO

Se utilizó un diseño factorial multivariado con 2 factores: el período en el que las madres consumieron alcohol y el sexo de las crías, y 4 variables de respuesta: el número de errores cometidos, el número de sesiones realizadas, el tiempo invertido por las crías en el aprendizaje y la expresión del NMDA en su cerebro total. Se organizaron 8 grupos de madres, que permitieron evaluar el efecto del consumo materno durante sólo la pregestación (100), sólo la gestación (010), sólo la lactancia (001) y durante cada una de sus combinaciones, como se ilustra en la siguiente tabla:

Tabla 1.
Períodos de consumo de alcohol por las madres

Grupos de madres	Pregestación	Gestación	Lactancia
111	Etanol	Etanol	Etanol
110	Etanol	Etanol	---
101	Etanol	---	Etanol
100	Etanol	---	---
011	---	Etanol	Etanol
010	---	Etanol	---
001	---	---	Etanol
000	---	---	---

PROCEDIMIENTO

Se realizó en tres etapas:

6

Etapa I: Reproducción de las crías.

Se programaron 3 grupos de madres por condición experimental (24 grupos), esperando obtener aproximadamente 56 crías, pero fue necesario duplicar los grupos, debido a la alta mortalidad de las crías, a dificultades en el apareamiento entre las hembras y los machos, al número reducido de nacimientos, al subdesarrollo de los animales (bajo peso y tamaño

reducido), a la muerte por acción de las madres, al canibalismo tanto de las madres como entre las crías y a la muerte súbita de las crías, como consecuencia del consumo del alcohol. De los 48 grupos que se organizaron, se seleccionaron 36 crías útiles para el entrenamiento en discriminación, de las cuales lo terminaron sólo 24 y 12 de ellas no satisficieron el criterio de aprendizaje. Además, todas las crías de las madres que consumieron alcohol durante a) la gestación y la lactancia juntas (grupo 110) y b) solo durante la pregestación (grupo 100) murieron antes del entrenamiento, durante los 2 – 3 meses de edad.

Etapa II: Destete y evaluación inicial de las crías.

Durante los días inmediatamente posteriores al destete (días 22 – 26 después del nacimiento) se evaluó tanto la motricidad como la capacidad olfativa de cada una de las crías. La motricidad se evaluó en un campo abierto de 30 cm² dividido en 36 cuadrados de igual tamaño. La capacidad olfativa se evaluó mediante un procedimiento de condicionamiento clásico en el que se apareó una solución de sacarosa administrada intraoralmente, como EI, al olor de esencia de limón, como EC. La prueba del condicionamiento se realizó observando la conducta de succión de un catéter unido a una jeringa vacía, como RC. La RI fue la succión de la solución de sacarosa²³.

Etapa III: Entrenamiento en discriminación olfativa.

Se utilizó el procedimiento experimental descrito por J. A. Dusek y H. Eichenbaum (1997), que se llevó a cabo a lo largo de 3 fases: moldeamiento inicial, pre-entrenamiento en discriminación simple de olores y entrenamiento en discriminación simultánea de olores²¹.

Durante el pre-entrenamiento se utilizaron esencias de coco y de limón. Para el entrenamiento se utilizaron 4 pares de estímulos olfativos que se presentaron secuencialmente en cada sesión de la siguiente manera: discriminación de la esencia de girasol vs. la esencia de mandarina, discriminación de la esencia de mandarina vs. la esencia de madera, discriminación de la esencia de madera vs. la esencia de manzana y discriminación de la esencia de manzana vs. la esencia de fresa. Este entrenamiento se llevó a cabo en 4 fases, con una complejidad progresiva y en las que cada par de estímulos se presentó 10 veces, durante la primera, cada par de estímulos se presentó 10 veces seguidas; durante la segunda, cada par se presentó 5 veces seguidas en 2 secuencias diferentes; durante la tercera, cada par de estímulos se presentó en 3 secuencias diferentes, 4 veces la primera vez y 3 veces durante la segunda y la tercera



y durante la cuarta fase, cada par se presentó las mismas 10 veces, uno por ensayo, conservando la secuencia de los pares de estímulos.

MEDIDAS

Medición del aprendizaje

El aprendizaje se evaluó mediante el registro del número de sesiones realizadas por cada sujeto para alcanzar el criterio de aprendizaje, el número de errores cometidos y el tiempo invertido en cada sesión. A cada sujeto se le exigió como criterio de aprendizaje realizar el 80% de respuestas correctas en cada secuencia de 10 ensayos durante todas las sesiones, hasta un máximo de 10 sesiones por fase. Como cada par de estímulos se presentaba 10 veces y eran 4 pares, cada sesión constaba de 40 ensayos diarios, de los cuales 32 debían ser correctos, 8 en cada par. Los sujetos que no cumplieron este criterio fueron excluidos del estudio.

Cuantificación de NMDA en cerebro total

Luego de las evaluaciones de las pruebas cognitivas, algunos animales de cada grupo experimental fueron sacrificados y se extrajo el cerebro, que se colocó en solución fisiológica fría mientras se iniciaba el proceso de maceramiento. La extracción y la cuantificación del receptor se realizaron según el método de Wenthold y cols.²⁴, con las modificaciones reportadas por Reyes-Montaña y cols. (2006)²⁵. Su expresión se midió en microgramos por gramo de tejido cerebral. Todas las se realizaron por triplicado con tres muestras independientes de cada cerebro. Posteriormente se promediaron los valores para los individuos de cada tratamiento.

Ética

El uso de animales se justificó por la necesidad de incrementar el conocimiento de los procesos psicológicos y fisiológicos que se consideraron importantes para la comprensión de las alteraciones producidas por el consumo del alcohol durante el embarazo, el cual se ha observado incrementado en la mujer, aun en aquellas de las cuales no se sospecha debido a su nivel educativo. Los resultados de esta investigación permiten orientar los estudios y la intervención con los hijos de las madres consumidoras de alcohol y los programas de instrucción y de prevención de este problema que excede el nivel individual.

Los animales pie de cría se adquirieron en el Instituto Nacional de Salud, se mantuvieron en cajas de vivienda y de transporte adecuados, con comida y agua diaria ad limitum, en un medio con ventilación, humedad, temperatura ambiental apropiadas (19°C en promedio), y ciclo luz - oscuridad invertido, bajo observación y registros diarios la Resolución 8430 del 04 de Octubre de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia²⁶, las Guidelines for Ethical Conduct in the Care and the Use of Animals de la APA²⁷, las normas del Comité de Ética para la Experimentación con Animales de la Universidad de Antioquia²⁸, la Ley.1090 de reglamentación del ejercicio profesional del psicólogo²⁹ y El Manual de Funcionamiento interno del Bioterio de la PUJ³⁰.

Los investigadores fueron personas entrenadas formalmente en el manejo de animales de experimentación y se garantizó el entrenamiento de los estudiantes.

El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Psicología y por la Vicerrectoría Académica de la Universidad Javeriana, sede Bogotá.

RESULTADOS

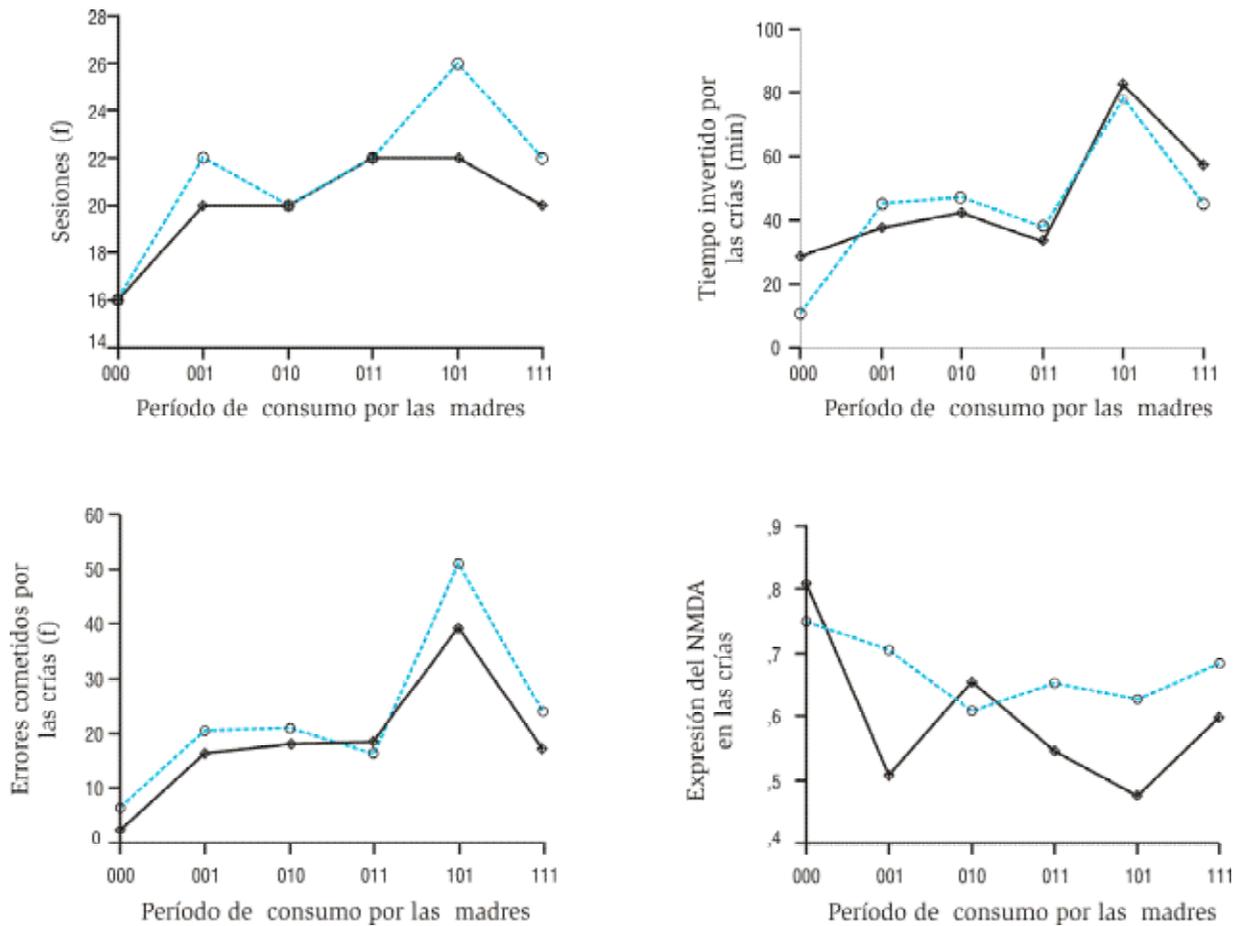
Los datos se analizaron mediante un ANOVA multivariado que permitió evaluar las diferencias provocadas por los 6 períodos diferentes de consumo materno del etanol sobre 4 respuestas relacionadas entre sí, dadas por las crías ante el entrenamiento en discriminación olfativa.

La Figura 1 presenta las medias de cada una de las variables de respuesta: número de sesiones realizadas, tiempo invertido, número de errores y expresión del receptor NMDA en las crías de las madres que ingirieron alcohol durante las diversas condiciones experimentales, por sexo.

Se observa principalmente un incremento en el número de sesiones, en el tiempo invertido y en el número de errores cometidos por las crías en los períodos pre y perinatales: pregestación y lactancia (101), como, también, un decremento en la expresión del receptor NMDA, en comparación con todos los grupos, especialmente en relación con el grupo control. En términos generales, el consumo materno del alcohol incrementó en las crías el número de sesiones, el tiempo invertido y los errores cometidos durante el aprendizaje y paralelamente decrementó la expresión cerebral del receptor NMDA. El efecto del consumo del alcohol en cada período se ilustra en la Figura 2, donde se observa la similitud en la tendencia de y la correlación directa entre el número

Figura 1.

Número de sesiones requeridas para alcanzar el criterio de aprendizaje (arriba izquierda), tiempo invertido durante las sesiones (arriba derecha); número de errores cometidos durante el entrenamiento (abajo izquierda) y expresión del NMDA en el cerebro total (abajo derecha), en crías de 2 – 3 meses de edad, en función del período de consumo materno de etanol, por sexo. Hembras: -----. Machos: ____.



de los errores cometidos y el tiempo invertido en el aprendizaje, como también la tendencia de la expresión del NMDA y su correlación inversa con las 2 variables del aprendizaje. También se observa el orden de los efectos generados por el alcohol en los diferentes períodos de consumo materno, en comparación con el grupo control. Los mayores efectos sobre el aprendizaje ocurrieron como consecuencia del consumo durante la pregestación más la lactancia y el menor efecto, como consecuencia del consumo durante la gestación más la lactancia. Los resultados del análisis inferencial se encuentran en las Tablas 2 y 3.

La figura anterior muestra una aparente similitud en los efectos producidos en las crías por el consumo materno del alcohol Sin embargo, Los machos fueron más afectados que las hembras por cuanto invirtieron más tiempo en el aprendizaje y sufrieron mayor decremento cerebral del NMDA que las hembras. Sin embargo, sólo el nivel del NMDA presentó diferencia significativa entre los sexos con un nivel de confianza del 97 %, aunque con poco tamaño del efecto (Tablas 2 y 3).

Los efectos dependientes del sexo se pueden apreciar en la Figura 3.

Las correlaciones entre las variables dependientes, requeridas para evaluar la posibilidad del análisis multivariado, se presentan en la Tabla 2.



Figura 2.

Comparación de los promedios en los errores cometidos (línea continua), el tiempo invertido en las sesiones (línea cortada) y la expresión cerebral del NMDA (línea punteada), entre los diferentes períodos de consumo materno de alcohol. PL: pregestación más lactancia; G: gestación; PGL: pregestación más gestación más lactancia; L: lactancia; GL: gestación más lactancia. Los valores están en las escalas de medida correspondientes a cada variable.

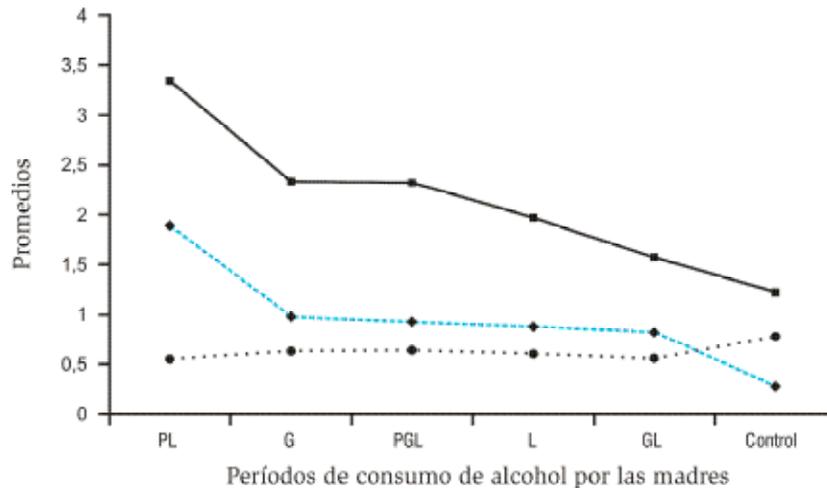


Tabla 1.

Correlaciones entre las variables dependientes: Sesiones invertidas, Errores cometidos, Tiempo invertido y Expresión del NMDA en las crías de madres consumidoras de etanol

	Número Sesiones	Número Errores	Tiempo invertido	Expresión NMDA
Número sesiones	---	.78*** .000	.65** .001	-.53** .007
Número errores	---	---	.72*** .000	-.57** .003
Tiempo invertido durante las sesiones	---	---	---	-.46* .02

* : $p < .05$; ** : $p < .01$; *** : $p < .001$.

Las correlaciones entre las 3 expresiones del aprendizaje fueron directas y altamente positivas; entre las variables del aprendizaje y la expresión del NMDA fueron inversas. Las más fuertes se presentaron, de mayor a menor: 1. entre el número de sesiones y el número de errores cometidos. 2. Luego, entre el número de errores y el tiempo invertido; 3. Después, entre el número y la duración de las sesiones; 4. entre el número de errores y la expresión del NMDA, 5. entre el número de sesiones y el NMDA; y 6. por último, entre el tiempo invertido y la expresión del NMDA.

El MANOVA (Tabla 2) mostró efectos estadísticamente significativos generados por el período de consumo por parte de las madres, con un Lambda de Wilks (\tilde{E}) = .03, una $F = 2.85$, una $p = .004$, un $\zeta^2 = .58$ y una potencia = .92. El sexo de las crías generó efectos significativos con un Lambda de Wilks (\tilde{E}) = .26, una $F = 6.34$, una $p = .01$, un $\zeta^2 = .73$ y una potencia = .89. El Lambda de Wilks correspondiente al período de consumo por las madres, cercano a cero, señala una fuerte diferencia entre las medias de las respuestas en conjunto, dadas por las crías, producidas como consecuencia del período



Figura 3.

Promedios de los errores cometidos, el tiempo invertido en las sesiones y la expresión cerebral del NMDA, por sexo, en las crías de madres consumidoras de alcohol.

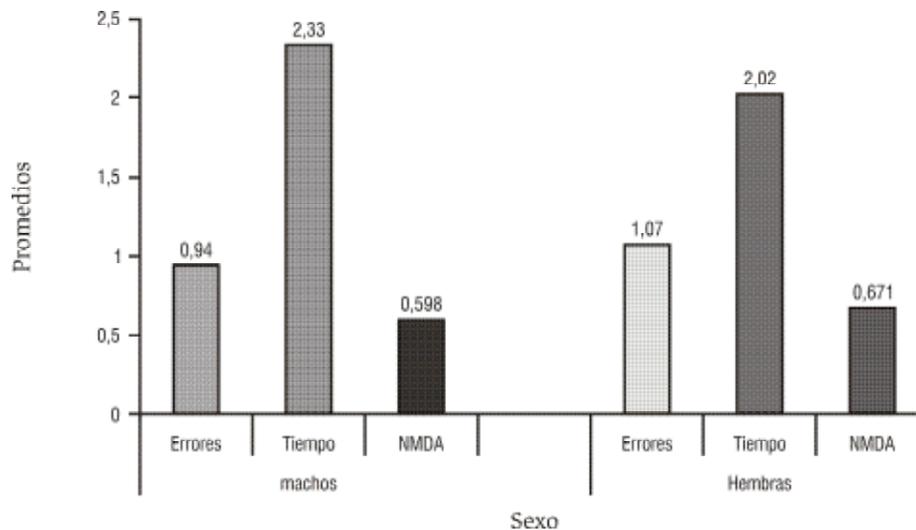


Tabla 2.

ANOVA multivariado y de los efectos inter-sujetos del Período de Consumo Prenatal de etanol y del Sexo de las crías sobre la ejecución de las mismas en un entrenamiento en discriminación olfativa, 2 - 3 meses después del nacimiento (N = 24)

Factores	Análisis	Vs.Ds.	Λ	gl	MC	F	p	η^2	Potencia
Período Consumo por las madres	Multivariado		.03			2.85**	.004	.58	.92
	Univariados	Sesiones		5	28.26(4.0)	7.06**	.003	.74	.97
		Tiempo		5	1618.32(379.61)	4.26**	.01	.64	.82
		Errores		5	705.04(36.12)	19.51***	.000	.89	1.0
		NMDA		5	.0023(.005)	4.30**	.01	.08	.83
Sexo de las crías	Multivariado		.26			6.34**	.01	.73	.89
	Univariados	Sesiones		1	10.66(4.0)	2.66	.12	.18	.32
		Tiempo		1	48.47(379.61)	.12	.08	.01	.06
		Errores		1	126.04(36.12)	3.48	.72	.22	.40
		NMDA		1	.031(.005)	5.72*	.03	.32	.59

Λ : Coeficiente multivariado Lambda. MC: Media cuadrática. Entre paréntesis: Fuente de error. η^2 : Tamaño del efecto. *: $p < .05$. **: $p < .01$. ***: $p < .001$.

en el que las madres consumieron etanol, con un nivel de confianza del 99 % y una potencia del 92 %. El sexo de las crías, por el contrario, no influyó tanto como el período de consumo por las madres; su efecto fue significativo solo sobre la expresión del NMDA, como lo mostraron los análisis univariados (Tabla 2).

Los análisis univariados mostraron que el período de consumo por las madres provocó diferencias significativas en todas las variables de respuesta, principalmente en las relacionadas con el aprendizaje: los errores cometidos por las crías (F: 19.51 y η^2 : .89, con $p = .000$); el número de sesiones que los sujetos requirieron para aprender (F:



Figura 4.

Diferencia de medias entre cada período de consumo y el consumo durante la pregestación más la lactancia (pl). l: sólo lactancia; pgl: pregestación más gestación más lactancia; g: gestación; gl: gestación más lactancia.

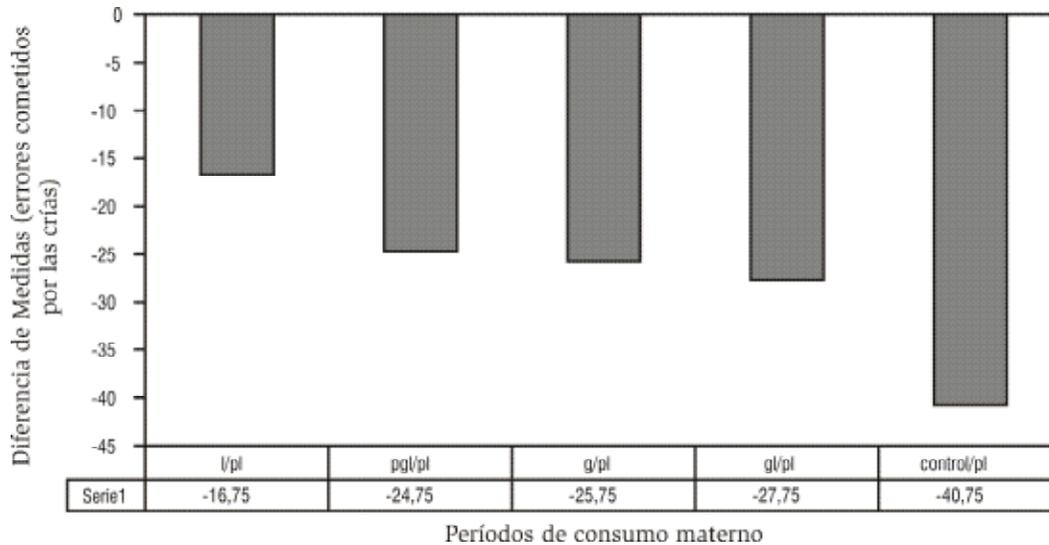


Tabla 3

Diferencia de medias entre los efectos producidos en las crías por los diferentes períodos de consumo materno de etanol sobre las expresiones del aprendizaje y del NMDA

Respuestas de las crías	Consumo materno	Dif. de medias	E. T.	p
Número de sesiones	Control vs gestación y lactancia	-6.0*	1.41	.017
	Control vs pregestación más lactancia	-8.0**	1.41	.002
Número de errores	Control vs pregestación más lactancia	-40.75***	4.25	.000
	Control vs pregestación, gestación y lactancia	-16.0*	4.25	.04
	Lactancia vs pregestación más lactancia	-16.75***	4.25	.001
	Gestación vs pregestación más lactancia	-25.75***	4.25	.001
	Gestación y lactancia vs pregestación más lactancia	-27.75***	4.25	.000
	pregestación, gestación y lactancia vs pregestación más lactancia	-24.75***	4.25	.001
Tiempo invertido durante las sesiones	Control vs pregestación más lactancia	-60.59*	13.77	.013
Expresión del NMDA	Control vs pregestación más lactancia	.227*	.05	.015

0: Madres control. 001: Madres que consumieron etanol sólo durante la lactancia. 010: Madres que consumieron etanol sólo durante la gestación. 011: Madres que consumieron etanol durante la gestación y durante la lactancia. 101: Madres que consumieron etanol durante la pregestación y durante la lactancia. 111: Madres que consumieron etanol durante la pregestación, la gestación y la lactancia.. * : p d".05. ** : p d".05. *** : p d".001.



7.06 y ζ^2 :.74, con $p = .003$); el tiempo invertido durante las sesiones ($F: 4.26$ y ζ^2 :.64, con $p = .01$); y sobre la expresión del NMDA ($F: 4.3$ y ζ^2 :.08, con $p = .01$). El sexo, por el contrario, provocó diferencias significativas sólo sobre la expresión cerebral del NMDA ($F: 5.72$ y ζ^2 :.32, con $p = .03$).

La Figura 4 ilustra la influencia relativa que ejerció el consumo de alcohol durante la pregestación y la lactancia, en comparación con los demás períodos de consumo.

La Figura 1 y la Tabla 2 mostraron cómo el mayor efecto ocasionado por el consumo materno de alcohol fue el incremento del número de errores durante el aprendizaje de las crías, principalmente cuando el consumo ocurrió durante la pregestación más la lactancia. La Figura 3 ilustra gráficamente el efecto negativo del consumo materno de esta sustancia durante estos 2 períodos, en términos de diferencia de medias. El consumo de alcohol en cualquiera de los períodos estudiados incrementó el número de errores, pero su incremento fue mayor y más significativo durante la pregestación y la lactancia (Tabla 3). Las barras muestran las diferencias en los promedios de errores cometidos por los sujetos en cada una de 5 períodos de consumo materno en relación con los errores cometidos por las crías como consecuencia del consumo materno durante el período que produjo mayor efecto deletéreo: pregestación más lactancia (Figura 3).

DISCUSIÓN

El diseño de este estudio permitió organizar 8 grupos de crías, de acuerdo con las posibles combinaciones de los 3 períodos de consumo estudiados: pregestación, gestación y lactancia, pero de éstos se evaluaron sólo 6, pues las crías de las madres que consumieron o durante la pregestación o durante la gestación más la lactancia murieron durante los primeros días de nacidas. De los 6 grupos restantes, sólo 24 de las 36 crías seleccionadas para el entrenamiento lograron el criterio de aprendizaje en todas las sesiones; además, las crías de las madres intoxicadas durante la pregestación más la lactancia fueron las más afectadas por el consumo materno del alcohol, pues cometieron más errores y tuvieron que realizar mayor número de sesiones para lograr el criterio de aprendizaje. Por el contrario, y de manera no esperada por los investigadores, el consumo de alcohol durante sólo la gestación, durante la gestación junto con la lactancia, o junto con la pregestación y la lactancia fue menos deletéreo. En cuanto al NMDA, su expresión se decrementó en todas las crías, como consecuencia

del consumo materno en todos los períodos pre y perinatales, en comparación con el grupo control. Finalmente, el consumo materno del alcohol produjo diferencias significativas tanto en las variables del aprendizaje como en la expresión del NMDA; pero no en el sexo, excepto en la expresión cerebral del NMDA. Estos resultados parecen indicar que el mayor riesgo del consumo materno del alcohol en las crías se manifiesta inicialmente en los efectos físicos: muerte, bajo peso, desarrollo demorado y modificaciones faciales. Si estos efectos no aparecen o son superados, sobresalen las deficiencias cognitivas que, en el caso de este estudio, se expresaron en la inhabilidad para lograr un criterio de aprendizaje, en el mayor tiempo invertido, en el incremento del número de errores y en el mayor número de sesiones necesarias para alcanzarlo.

La muerte de todas las crías de las madres que consumieron durante la gestación, grupo 010, y durante la gestación más la lactancia, grupo 011, enfatiza el efecto deletéreo del consumo durante la gestación y es consistente con el desarrollo del SFA. La no muerte de las crías de las madres que consumieron durante otros períodos o combinaciones de períodos, pero que fueron afectadas en su habilidad para aprender corrobora el desarrollo de los EFA sin SFA.

En cuanto al NMDA, vale la pena notar que, si bien se observó correlación negativa entre su nivel de expresión cerebral y las 3 variables del aprendizaje, su diferencia fue significativa sólo en relación con el sexo. En la muestra total su correlación fue más negativa con el número de errores cometidos que con el tiempo invertido durante el aprendizaje. Sin embargo, al tener en cuenta el sexo se observó más relación entre el nivel del NMDA y el tiempo invertido, aunque de manera diferente en cada sexo: menor tiempo y menor descenso del NMDA en las hembras; mayor tiempo y mayor descenso del NMDA en los machos. Por lo demás, la correlación inversa observada entre el número de errores cometidos y el nivel del NMDA en la muestra total de sujetos no parece consistente cuando se tiene en cuenta el sexo: mayor número de errores y menor descenso del NMDA en las hembras; menor número de errores y menor expresión del NMDA en los machos. Si se observa una correlación inversa fuerte entre el aprendizaje y el nivel cerebral del NMDA, ¿qué diferencias establece el sexo en esta correlación? Los resultados generales de esta investigación en la muestra total son consistentes con los encontrados en la literatura consultada, pues no se encontraron referencias relacionadas con la influencia del sexo. Es posible que la interacción del sistema



glutamatérgico con otros sistemas neurofisiológicos permita interpretar estas diferencias. Quizás un análisis de varianza – covarianza permita profundizar e interpretar estos resultados, que no fue posible en este estudio por la diferencia en el tamaño de la muestra entre los sujetos entrenados y los sujetos a los que se les realizó el análisis bioquímico.

Finalmente, los resultados obtenidos con respecto al significativo efecto del consumo materno de alcohol sobre la expresión del receptor NMDA confirman el papel central de este complejo molecular en el desarrollo del FAS y FAE en las progenies y abre la posibilidad de investigar tratamientos preventivos de estos efectos con base en medicamentos diseñados específicamente para prevenir las interacciones del alcohol con el receptor o con sus factores de regulación genética. De manera similar, se amplía, también, la posibilidad de buscar estrategias cognitivas que por lo menos reduzcan los efectos deletéreos del consumo materno del alcohol en el desempeño académico y de adaptación social de la descendencia de las madres consumidoras de esta sustancia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- May PM. Research issues in the prevention of fetal alcohol syndrome and alcohol-related birth defects. En: Howard JM, Martin SE, Mail PD, Hilton ME, Taylor ED. Women and alcohol: Issues for prevention research. Bethesda: NIH; 1996.
- The National Organization on Fetal Alcohol Syndrome, NOFAS. [sede Web]. 1998. Disponible en: www.nofas.org/what.htm
- Streissguth AP, Barr HM, Kogan J, Bookstein FL. Understanding the occurrence of secondary disabilities in clients with fetal alcohol syndrome (FAS) and fetal alcohol effects (FAE). Seattle: Fetal Alcohol Unit, University of Washington; 1996.
- Abel E, Sokol R. A revised comparative estimate of the incidence of FAS and its economic impact. Alcoholism: Clinical and experimental research. 1991; 15:
- Salvador J, Carrera JM. Síndromes congénitos malformativos, Barcelona: Masson; 1995.
- Minnesota's official FAS website [sede Web]. Minnesota. 1995. Disponible en: www.fas.state.mn.us/pages/testonly/facts.html
- Rostand A, Kaminsky M, Lelong N, Dehaene D, Delestret I, Klein-Bertrand C, et al.. Alcohol use in pregnancy, craniofacial features and fetal growth. J. Epidemiol. Community Health. 1990; 44: 302-306.
- Center for Disabilities, Department of Pediatrics. Fetal Alcohol Syndrome Handbook. Sioux Falls: University of South Dakota School of Medicine; 2002.
- Committee on Substance Abuse: Fetal Alcohol Syndrome and Fetal Alcohol Effects. Pediatrics. 1993; 91: 1004 – 1006.
- DeVries J, McCann D. Developmental overview of individuals disabled by Fetal Alcohol exposure. [Monografía en Internet]. Washington, D. C. FAS Family Resource Institute. 1996. Disponible en: www.accessone.com/~delindam/fas-assess.html
- Weinberg J. Prenatal alcohol exposure: Endocrine function of offspring. En: Zakhari S, coordinador. Alcohol and the endocrine system. Bethesda: NIH; 1993.
- Barron S, Tieman SB, Riley EP. Effects of prenatal alcohol exposure on the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area of the hypothalamus in male and female rats. Alcohol: Clinical and experimental research. 1988; 12: 59 - 64.
- Day NL, Robles N, Richardson G, Geva D, Taylor P, Scher M. et al. The effects of prenatal alcohol use in the growth of children at three years of age. Alcohol Clin. Exp. Res. 1991; 15: 67 - 71.
- Toso L, Poggi SH, Roberson R, Woodard J, Park J, Abebe D, et al. Prevention of alcohol-induced learning deficits in fetal alcohol syndrome mediated through NMDA and GABA receptors. Am J Obstet Gynecol. 2006; 194(3): 681-686.
- Olney JW, Wozniak DF, Jevtovic-Todorovic V, Farber NB, Bittigau P, Ikonomidou C. Glutamate and GABA receptor dysfunction in the fetal alcohol syndrome. Neurotox Res. 2002; 4(4): 315-325.
- Honse Y, Nixon KM, Browning MD, Leslie SW. Cell surface expression of NR1 splice variants and NR2 subunits is modified by prenatal ethanol exposure. Neuroscience. 2003; 122(3): 689-698.
- Tang YP, Shimizu E, Dube GR, Rampon C, Kerchner GA, Zhuo M, et al. Genetic enhancement of learning and memory in mice. Nature. 1999; 401: 63-69.
- Bríñez JA. Efectos fetales del alcohol sobre la ejecución senso-perceptual en escolares entre 7 y 15 años de edad. Acta Colombiana de Psicología. 2000; 4: 35 – 48.
- Bríñez JA. La satisfacción de la relación de pareja y el consumo de sustancias psico-activas en mujeres jóvenes embarazadas. Acta Colombiana de Psicología. 2003; 9: 17 – 34.
- Dusek JA, Eichenbaum H. The hippocampus and memory for orderly stimulus relations. Proceedings of National Academy of Sciences. Psychology. 1997; 94: 7109 – 7114.
- Colotla V. (1976). Modelos experimentales del alcoholismo. Enseñanza e Investigación en Psicología. 1976; 1 (2): 87 – 104.
- Cheslock SJ, Varlinskaya EI, Petrov ES, Spear NE. Rapid and robust olfactory conditioning with milk before suckling experience: Promotion of nipple attachment in the newborn rat. Behavioral Neuroscience. 2000; 114 (3): 484 – 495.
- Wenthold RJ, Blahos J, Huh KH, Petralia RS. Detergent solubilization and immunoprecipitation of native NMDA receptors. En: Li M coordinador. NMDA Receptor Protocols. Methods in Molecular Biology. Vol. 128. Totowa: Humana Press; 1999.
- Reyes-Montaña EA, Lareo LR, Chow C, Pérez-Gómez G. Immunolocalization and Biochemical Characterization of N-methyl-D-aspartate Receptor Subunit NR1 from Rat Brain. Prot. J. 2006; 25(2): 95-108.
- Normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. Resolución 8430 / 1993 de 04 de Octubre. Ministerio de Salud de Colombia.
- APA's Committee on Animal Research and Ethics (CARE). Guidelines for ethical conduct in the care and the use of animals. Washington, DC: APA Science Directorate.
- Universidad de Antioquia. Comité de Ética para la experimentación con animales. Medellín: 2006.
- Por la cual se reglamenta el ejercicio de la profesión de psicología, se dicta el código deontológico y bioético y otras disposiciones. Ley 1090 / 2006. Congreso de la República de Colombia.
- Pontificia Universidad Javeriana. Principios básicos para el manejo de animales de laboratorio. Manual de funcionamiento interno del bioterio. [monografía en Internet]. Bogotá: [acceso 25 de Septiembre de 2007]. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/Facultades/Ciencias/neurobioquimica/grupo/rbioterio.PDF>

