

## Revisión

### IMPLICANCIA DEL CONSUMO MATERNO DE ALCOHOL EN EL DESARROLLO EMBRIOFETAL

*Dra. Elisa Cebral*

*Investigadora del CONICET*

*Laboratorio de Biología del Desarrollo. - Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias. - (IFIBYNE-CONICET).*

*Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires (UBA).*

*Lab.21, 4to. Piso, Pab. II. Ciudad Univesitaria.*

*Buenos Aires, Argentina - e-mail: ecebral@hotmail.com, cebral@bg.fcen.uba.ar*

#### Introducción

El alcoholismo, quinta causa de mortalidad mundial y tercer problema sanitario de gravedad, produce su efecto tóxico más relevante en el desarrollo embriofetal. La exposición prenatal a esta droga ocasiona una alta prevalencia de niños enfermos (1/300 a 5/1000). Cada año nacen más de 40.000 bebés con algún grado de daño cerebral; más aún, el 33% de los niños de madres consumidoras presentarán retraso en el crecimiento pre y postnatal, anomalías físicas, fisiológicas y/o psicomotoras.

El estudio de los efectos y mecanismos de las anomalías que induce el consumo materno de alcohol ha llevado a la necesidad de enmarcar estas investigaciones en tres grandes grupos, según los períodos de ingesta de esta droga, a saber: a) el consumo durante la gestación, b) el consumo antes de la gestación, y c) el consumo antes y durante la gestación.

#### El consumo de alcohol durante la gestación

El alcohol es un agente mutagénico y teratogénico pues llega al embrión o al feto a través de la madre causando anomalías estructurales-funcionales en ellos o en el recién nacido.

Diversos modelos experimentales han descrito los efectos de la ingesta crónica o aguda de alcohol durante la gestación <sup>(1)</sup>. Es bien conocido que el alcohol llega al embrión o el feto directamente y/o por circulación placentaria pues cruza fácilmente la placenta y alcanza la sangre fetal y el líquido amniótico, aún a los mismos o mayores niveles que los de la sangre materna, y permanece elevado durante un período más prolongado que en la sangre materna.

En sentido estricto, el alcohol interfiere con los períodos de mayor susceptibilidad embrionaria:

la organogénesis (entre la tercera y la séptima semana de gestación en la mujer <sup>(2)</sup>) dando lugar a defectos congénitos. Principalmente, las anomalías inducidas más importantes son las relacionadas con las alteraciones de los procesos de formación del sistema nervioso central (SNC). Por otro lado, el consumo crónico *durante la gestación* produce parto prematuro y/o retraso del crecimiento. Las mujeres que beben alcohol en grandes cantidades son de dos a cuatro veces más propensas a sufrir abortos espontáneos entre el cuarto y el sexto mes de embarazo que las mujeres que no lo consumen. Si bien la mayoría de las mujeres están conscientes de que el consumo de alcohol en grandes cantidades durante el embarazo puede provocar defectos al nacimiento, muchas de ellas no saben que el consumo de alcohol en cantidades moderadas o incluso bajas también puede dañar al bebé en crecimiento.

Los efectos teratogénicos del alcohol son conocidos desde la antigüedad y ya a mediados del siglo XVIII fueron reconocidos en Inglaterra. A partir de 1973, se comenzaron a describir características específicas de la patología asociada al consumo gestacional de alcohol: el “**síndrome de alcoholismo fetal**” (FAS), describiéndose de manera completa en el año 1988. Este conjunto de disfunciones y/o alteraciones está caracterizado por: retardo pre y postnatal en el crecimiento, disfunciones del SNC, orgánicas, metabólicas y hormonales, defectos craneofaciales, trastornos severos del sistema inmunológico, retardo mental de diverso grado, alteraciones en el aprendizaje, disfunción psicomotriz, entre otras alteraciones en el niño <sup>(3,4,5,6,7,8)</sup> (**Cuadro 2**).

El FAS se presenta en el 6% de los bebés nacidos de mujeres que beben en exceso durante el embarazo o presentan episodios reiterados en los

Históricamente, para que un individuo sea diagnosticado de presentar FAS, se requieren anomalías en tres áreas (momentos) distintas: 1) retraso del crecimiento pre y/o postnatal, 2) una apariencia facial distinta, y 3) alguna evidencia de disfunción a nivel del sistema nervioso central (SNC) (75).

El diagnóstico del FAS es realizado por diversas características distintivas:

- a) Retardo pre y postnatal: retraso en el crecimiento embrio-fetal, disminución del peso y tamaño pre y postnatal, circunferencia craneana reducida.
- b) Disfunción del SNC: signos de anomalía neurológica, retraso de desarrollo, deterioro de la función intelectual, déficits neuroconductuales (Hiperactividad y deficiencias de atención; coordinación motora reducida; alteraciones psicosociales; disminución del coeficiente intelectual, capacidad de abstracción reducida, empobrecimiento de la fluidez verbal y de la memoria espacial, entre otros).
- c) Características faciales dismórficas: microcefalia, micro-oftalmia y/o aberturas palpebrales cortas, nariz corta, angostamiento o hipoplasia del labio superior, aplastamiento del área maxilar.
- d) Disfunción hormonal y metabólica: hipoglucemia, disturbios vitamínicos.
- e) Disfunción orgánica: defectos cardíacos, genitales externos anormales y anomalías de oído medio, alteración del sistema muscular esquelético.

Cuadro 1: El síndrome de alcoholismo fetal (FAS).

	Hembras de ratón controles	Hembras de ratón intoxicadas
Consumo de Alcohol en el agua de bebida	-	10 % alcohol = 18 g etanol/kg/día
Alcoholemia (mg OH/dl)	-	25 mg/dl
Tasa de Implantación (Nro)	12,5 ± 1,5	10,6 ± 0,8
Tasa de reabsorción (aborto)	0,5 ± 0,2	2,0 ± 0,5 *
(%) Embriones retrasados (más de 1 día)	98,9 %	95 % **
(%) Embriones organogénicos (E.D.10)	84 %	66 % ***
Nro (%) Embriones Anormales (TN)	14 %	34 % ***
Tamaño Corporal embrionario (E.10) (µm)	1114,4 ± 51,1	709,9 ± 68 **
Tamaño relativo de la cabeza (E.10).	0,51 ± 0,02	0,44 ± 0,01 *

Cuadro 2: Efectos generales del consumo perigestacional de alcohol en el período de organogénesis temprana (día 10 de gestación)  
Referencias: Se trataron hembras de ratón con 10 % de alcohol en el agua de bebida, por 17 días previos a la fecundación y durante 10 días de gestación. E.10: estadio embrionario en organogénesis temprana en el ratón (correspondiente al día 10 de gestación). Tanto la tasa de implantaciones como de reabsorciones está dada en Nro. Promedio de implantaciones (con error estándar medio), según número de animales tratados. El tamaño corporal fue medido como la longitud cefálica-caudal del embrión (µm)\*: p<0.05, \*\*: p<0.01, \*\*\*: p<0.001 (significativamente diferente).

que beben demasiado en una misma ocasión. Según la población estudiada, la incidencia del FAS varía entre 1:300 y 1:2000 de los nacidos vivos, y ocurre en un tercio de los niños nacidos de madres que consumieron más de 150 g de etanol diariamente durante la gestación. La menor cantidad de alcohol ingerida que se ha juzgado relacionada con el FAS es de 75 ml al día. Sin embargo aún no está claro si hay algún límite inferior seguro que no induzca defectos congénitos.

Una cantidad de bebés de hasta 10 veces el número de niños que nacen con FAS, nacen con daños menores por el consumo materno de alcohol, condición que se clasificó como “**efectos alcohólicos fetales**” (FAE) o “**Fetal Alcohol Spectrum Disorders**” (FASDs). Estos niños pueden presentar anomalías menos pronunciadas que el FAS, o tener algunos defectos congénitos físicos o mentales característicos del FAS. Aún en ausencia de anomalía morfológica facial, criterio utilizado para diagnosticar el FAS, la fuerte exposición a alcohol puede producir un significativo y severo daño cerebral y disfunción conductual<sup>(9, 10)</sup>. Entonces, a pesar que el FAS es la patología mayormente conocida, el consumo leve de alcohol por parte de la madre puede ocasionar el FAE.

Diversos estudios han descrito la toxicidad del *consumo de alcohol durante la gestación*, efectos que son dependientes de las alcoholemias producidas. En base a esto se han clasificado los defectos que induce el consumo de alcohol.

### 1). Consumo leve u ocasional (alcoholemias (BAC) de 5-160 mg/dl)

La exposición aguda y subaguda de alcohol en la etapa preimplantacional del desarrollo embrionario (días 1 a 6 de preñez) puede provocar desregulación del crecimiento embrionario, acelerando la diferenciación del mismo y llevando posteriormente a aumento de muerte embriofetal en etapa postimplantatoria o anomalías craneofaciales fetales con reducción del peso corporal.

El consumo de 12-48 g etanol / kg / día (o 100-400 ml de vino / día) en el primer trimestre de la gestación, aumenta al doble el riesgo de aborto espontáneo, mientras que la ingesta de 18 g etanol / kg / día (250 ml de vino / día) incrementa la posibilidad de contraer alguna patología asociada con los “efectos alcohólicos fetales” (FAE). El consumo de más de 48 g etanol / kg / día (más de 250 ml de vino) en el tercer trimestre, acarrea elevado riesgo de contraer el “síndrome de alcoholismo fetal” (FAS).

### 2). Consumo moderado o social (BAC: 27-200 mg/dl):

En la etapa preimplantacional el efecto directo y agudo de 80 mg / dl de alcohol sobre el embrión también induce diferenciación precoz de los blastocistos. Asimismo, la ingesta de estas cantidades durante la gestación, provocará un aumento del 30% de riesgo de FAS en los nacidos vivos.

### 3). Consumo fuerte o severo (BAC: 70-295 mg/dl)

Los embriones de preimplantación expuestos en forma aguda a elevados niveles de alcoholemia disminuirán su clivaje y la velocidad de su desarrollo y se verá afectada la tasa de implantación. Los que se logran implantar, pueden constituirse en fetos con malformaciones severas con elevado riesgo de mortalidad. Cuando la ingesta es crónica y durante toda la gestación, más de 5 bebidas / día (70 g / etanol / día, con BAC: 300-450 mg / dl) incrementa al doble el riesgo de contraer FAS.

### Efectos del consumo materno pregestacional

Diversos estudios han demostrado que los efectos embrio-fetales del consumo de alcohol pueden originarse por la ingesta antes del embarazo, por el hecho que el alcohol tiene efectos directos sobre el ovario.

El abuso de alcohol induce severas anomalías en el ciclo menstrual y ovulatorio<sup>(11,12,13)</sup> por supresión de la liberación de LHRH concomitante con la inhibición de la secreción de LH y FSH<sup>(14,15)</sup> y la inducción de hiperprolactinemia<sup>(16)</sup>. Estas anomalías incluyen la amenorrea, anovulación, disfunción de fase lútea<sup>(17,18,19)</sup>, fase lútea inadecuada<sup>(20)</sup>, retraso de la maduración folicular, menopausa temprana<sup>(21)</sup>, deterioro de la fertilidad, incremento del riesgo de aborto espontáneo, entre las más importantes. En modelos animales, el consumo pregestacional prolongado de alcohol, aún con bajas alcoholemias, fue capaz de retrasar la ovulación<sup>(22)</sup>. Las alteraciones de la maduración y la calidad citológica-nuclear de la gameta femenina se manifiestan como oocitos fragmentados o activados espontáneamente (parthenogénéticos), con afecciones bioquímicas y/o metabólicas<sup>(23,24)</sup>. La consecuencia de dichos efectos fue la disminución no sólo de la tasa de fertilidad<sup>(25)</sup>, sino también la reducción, inhibición, retraso y/o alteración (entre otras, bioquímica y metabólica relacionadas con los niveles de prostanoïdes<sup>(26)</sup> del desarrollo embrionario de preimplantación, tanto in-vitro como in-vivo<sup>(27,28,29)</sup> (Figuras 1-2), aún cuando la ingesta de alcohol

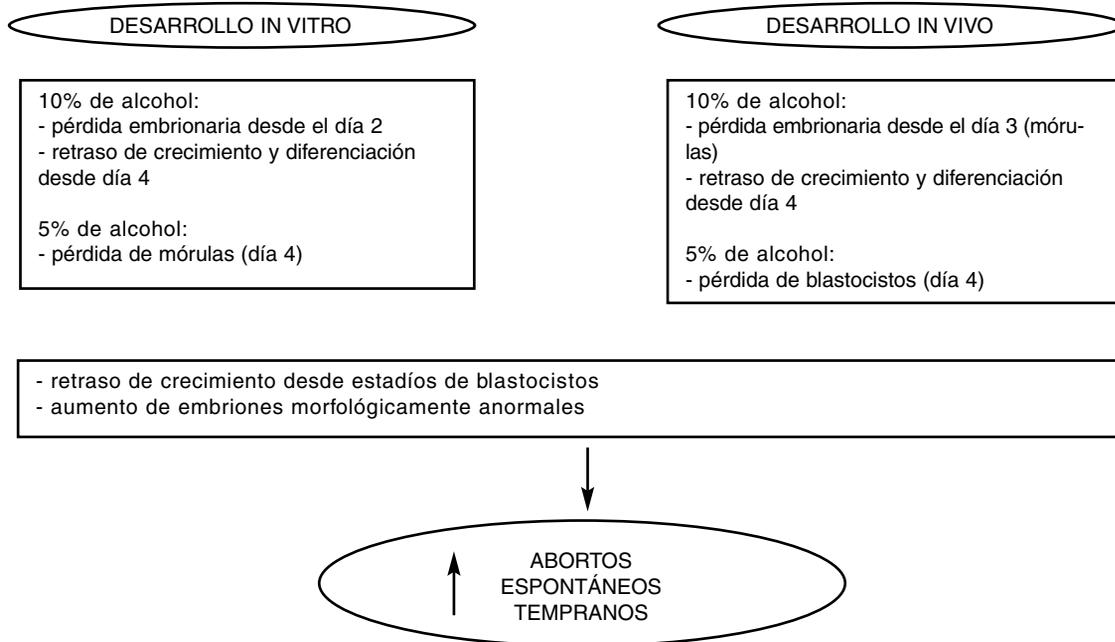


Figura 1: Efectos del consumo pregestacional sobre el desarrollo in vivo e in vitro, en un modelo experimental.

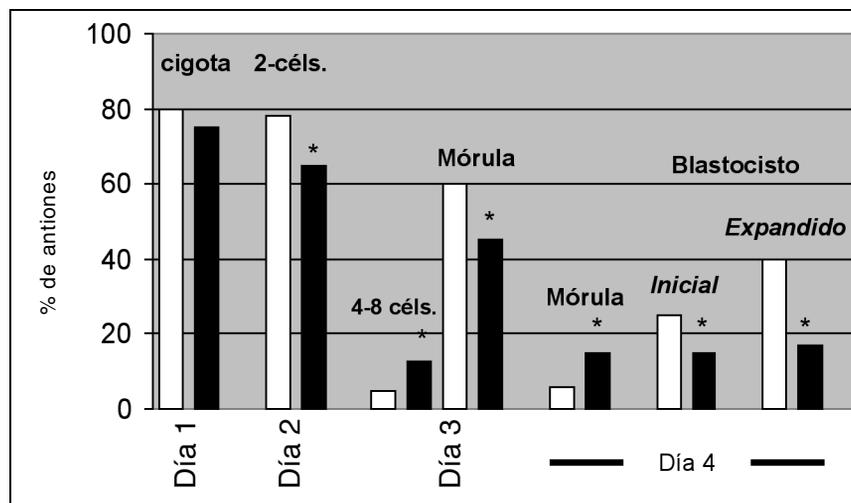


Figura 2: Retraso y pérdida embrionaria de preimplantación (in-vitro) luego del consumo pregestacional de alcohol. Se observa retraso en el crecimiento embrionario en todos los estadíos preimplantacionales. Referencias: Barras blancas: hembras controles fecundadas con machos controles (no tratados). Barras negras: hembras alcohólicas fecundadas con machos controles. \*: diferencia estadísticamente significativa.

haya cesado. Estos resultados fueron obtenidos en animales de experimentación mediante intoxicaciones crónicas de 14-40 g etanol/ kg/día de ingesta (ratón), equivalentes al consumo de 77-200 g etanol /70 kg/día en el hombre (1040-3100 ml de vino /día).

Por lo tanto, resulta importante destacar que la implicancia del consumo de alcohol previamente a la gestación es el riesgo incrementado de aborto preimplantacional y/o la inducción de anomalías embrionarias tempranas antes de la implantación.

### **Efectos del consumo materno perigestacional**

El consumo de alcohol durante el embarazo está muy comúnmente asociado con su ingesta previa, aún en forma prolongada o crónica y en elevadas cantidades, lo que determina que algunos, sino todos, de los efectos embriofetales estén causados por la disrupción de la fertilidad femenina, la alteración de la tasa ovulatoria y la mala calidad gamética. Tal es así, que, según estudios recientes, las mujeres que continúan consumiendo alcohol incluso en cantidades pequeñas, mientras intentan quedar embarazadas, pueden tener reducidas posibilidades de concepción.

La problemática del consumo perigestacional de alcohol (antes y durante el embarazo) experimentalmente ha sido poco abordada. Por ello, recientemente, se establecieron modelos animales (ratón), en los que la administración de concentraciones de alcohol relativamente moderadas en el agua de bebida, fue aplicada por un período semicrónico antes de la preñez y durante la gestación temprana. Estos estudios fueron realizados con el fin de evaluar y clarificar tanto los efectos de dicha exposición sobre períodos embrionarios tempranos, sino también para determinar los mecanismos de acción implicados en la inducción de las anomalías producidas. Los resultados encontrados hasta la fecha indican que el consumo periconcepcional afecta el desarrollo embrionario en tres niveles: a) nivel gamético (desarrollo del ovocito), b) nivel preimplantacional (desarrollo y crecimiento del embrión tardío o blastocisto) y c) nivel postimplantacional: directamente afectando eventos de la organogénesis del embrión y/o afectando el entorno materno.

La ingesta prolongada de alcohol en forma periconcepcional, aún en bajos niveles, produce deterioro de la tasa ovulatoria y la calidad gamética, siendo la inducción de activación

espontánea de los oocitos, el aumento de oocitos fragmentados y folículos atrésicos ováricos las principales alteraciones provocadas. Aunque, a este nivel se produzca una importante reducción de la fecundidad, algunas gametas de calidad inalterada serán fecundadas y formarán embriones de preimplantación. No obstante, la evaluación del desarrollo embrionario antes de la implantación mostró aumentos significativos del número de embriones con alta tasa de fragmentación, con anomalías en la formación de la cavidad blastocélica (proceso de cavitación), lo que redundó en acentuado retraso de diferenciación. Asimismo, los embriones presentaron signos de anomalías morfológicas con reducido crecimiento. Estos resultados anulan las hipótesis que sostenían la no inducción de efectos deletéreos por la ingesta de alcohol en el período preimplantacional (días 1 a 6 en la mujer). Más aún, en dichos modelos con animales de experimentación, se han encontrado también alteraciones en el transporte oviductal de los embriones hacia el útero, hecho que contribuirá y agrabará tanto el desarrollo del embrión como la interacción necesaria con el tejido materno al momento de la implantación. Algunos de estos resultados fueron avalados por los trabajos de Checiu y Sandor y col. <sup>(30)</sup> en los que describieron la reducción en la tasa de implantación y características morfológicas anormales en el embrión-feto de ratón expuesto al alcohol durante el período preimplantativo. También otros trabajos proveyeron evidencias sobre alteraciones en el crecimiento embrionario luego de la exposición de los embriones de preimplantación directamente a etanol <sup>(31,32)</sup>.

Por otro lado, es común o altamente probable que la mujer alcohólica continúe con la ingesta de alcohol durante al menos la primera etapa del embarazo, es decir hasta estadios postimplantatorios, donde la formación de los órganos constituyen los principales eventos (organogénesis: día 10 de gestación en el ratón, y en la mujer, entre la tercera y séptima semana de embarazo). En estudios experimentales recientes, se vio que la ingesta materna periconcepcional produce, en el momento de la organogénesis embrionaria, marcada disminución de la viabilidad embrionaria, retraso de la diferenciación en más de 1 día, aumento de mortalidad embrionaria, incremento de anomalías morfológicas principalmente al nivel de la formación del tubo neural y la región cefálica (**Cuadro 2**). Los embriones organogénicos analizados presentaron signos de neurodegeneración en

el tubo neural en formación, disminución severa del tamaño corporal y menor proporción relativa de la cabeza (33), resultado último que concuerda con la característica microcefalia inducida por el alcohol, reportada previamente.

Por lo tanto, existe la posibilidad que la ingesta de alcohol antes y durante la gestación afecte negativamente el desarrollo organogénico del embrión, y aún más adelante el crecimiento fetal, produciendo retraso tempranamente, alteraciones morfológicas embrionarias y pérdida precoz de la preñez, probablemente en estrecha relación con mala calidad del desarrollo preimplantacional y/o con pérdida ovulatoria (Figura 3).

#### **La dismorfogénesis embriofetal y los mecanismos de teratogenicidad producidos por el alcohol.**

A pesar que el grado de severidad y los defectos provocados por el alcohol en los modelos animales son muy variables, el análisis histopatológico y la microscopía electrónica de barrido mostraron la existencia de importantes blancos selectivos para la inducción de daño, como lo son las estructuras craneofaciales y las prominencias nasales medias en desarrollo (34,35). Ya en 1980, Webster y col. (36) demostraron que las anomalías, dependientes del estadio embrionario, de la cara y cerebro de la descendencia, podían ser inducidas por el consumo gestacional de alcohol. Así, se

observó que la exposición materna en estadios de gastrulación (segunda a tercera semana en el humano) resulta en exocefalia marcada, hipoplasia mandibular, ciclopia, labio leporino, defectos de formación del paladar y anomalías de ojos (anoftalmia o microftalmia) y cerebro (hipoplasia o aplasia del cuerpo calloso, hipoplasia de ganglios basales, deficiencias en el hipocampo y corteza anterior) (37). También Sulik y col. (38), describieron malformaciones craneofaciales en fetos de ratón, como microcefalia, microftalmia, acortamiento de fisuras palpebrales. Estos autores sugirieron que estos defectos faciales, cerebrales y ópticos son consistentes con el espectro de malformaciones holoprocencefálicas (34), causadas por exposiciones cortas de alcohol en los estadios embrionarios de organogénesis temprana (semanas 3 a 8 de la gestación humana) (39,40,41)

Diferentes estadios del desarrollo junto con los niveles de concentración de alcohol y tiempos de exposición, contribuyen al variado patrón de fenotipos del FAS. Asimismo, un creciente número de mecanismos, sobre la base de múltiples interacciones moleculares, celulares, bioquímicas, etc), han sido identificados como candidatos potenciales responsables de la patología alcohólica (42). Los mecanismos relacionados con la dismorfogénesis embriofetal han sido categorizados en distintas clases, enmarcadas según la fuente (primaria o secun-

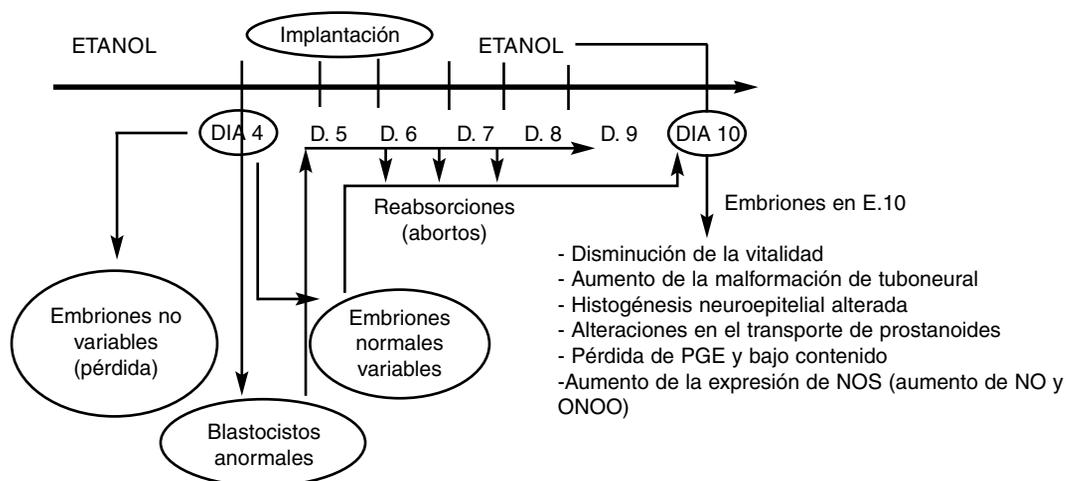


Figura 3: Eventos del desarrollo embrionario y estadios de pérdida registrados luego del consumo perigestacional de alcohol.

daria) (43):

#### A). Fuentes primarias de daño

1.- Alteración de la energética y metabolismo celular: utilización y transporte de la glucosa alterada, supresión de la síntesis de proteína y ADN, aumento del estado oxidativo, alteraciones en el metabolismo lipídico.

2.- Desregulación del ciclo celular del desarrollo: neurogénesis y gliogénesis alterada (desarrollo de neuritas, sinaptogénesis y mielinización afectadas).

3.- Alteraciones de regulación de la expresión génica: reducida señalización del ácido retinoico, defectos en los niveles de diversos factores de transcripción.

4.- Alteraciones de estructuras y funciones celulares: lípidos y proteínas de membrana (cambios en la fluidez/rigidez de la membrana), núcleo y componentes (interferencia con el aparato de división celular e inducción de aberraciones cromosómicas por no-disyunción (aneuploidías, trisomías).

5- Alteraciones en las interacciones célula-célula: inhibición de la función de moléculas de adhesión celular.

6- Interferencia con la señalización de factores de crecimiento y/u otras vías de transducción de señales celulares: óxido nítrico, prostanoïdes, calcio, etc.

7- Desregulación de la muerte celular: aumento de apoptosis.

#### B). Fuentes secundarias de daño:

- Alteraciones de la función placentaria u otros factores intrauterinos.

A continuación, es de interés hacer referencia especial a algunos mecanismos de inducción de efectos, por su importante participación, además de su escaso abordaje en los estudios sobre alcoholismo, en procesos claves que ocurren en la organogénesis embrionaria, como lo son la formación del tubo neural y el SNC.

#### Estrés oxidativo

El alcohol logra aumentar las especies reactivas del oxígeno (ROS), por la vía de la respiración mitocondrial, formando superóxidos, radicales hidroxilo, o radicales de nitrógeno; o por la vía de la oxidación del etanol a acetaldehído y acetato. La relación entre la patogénesis del desarrollo como consecuencia de la exposición a etanol y la formación de ROS ha sido establecida claramente (44,45) en astrocitos (46), células de la cresta neural embri-

naria, neuronas corticales (47) y tejido cerebelar. En estudios de cultivos de neuronas corticales, la exposición a etanol resultó en un rápido aumento (dentro de los 5 min.) en los niveles de ROS, que luego condujo a subsecuentes aumentos en la lipoperoxidación y apoptosis celular (47). También se ha observado patrones de excesiva muerte celular dentro de las 8-12 hs. posteriores a la exposición, en estructuras craneofaciales y cerebrales del embrión en desarrollo (49).

#### Alteraciones en segundos mensajeros: prostaglandinas

Diferentes prostaglandinas (PGs), ácidos grasos poliinsaturados, son producidas en las células en respuesta a una variedad de estímulos. A pesar que ellas son sintetizadas y liberadas para actuar en forma paracrina vía sus receptores, también tienen importantes funciones intracelulares y nucleares (50,51).

Anteriormente, se demostró que la administración de PGE a ratones preñados, en fases de organogénesis y fetales, resulta en una alta incidencia de retraso de crecimiento y crías con malformaciones (52). Asimismo, niveles de PGE disminuidos por administración gestacional de inhibidores de su síntesis (indometacina, ácido acetil salicílico), condujo también a reducción del peso corporal junto con malformaciones congénitas (53,54,55).

El alcohol parece afectar la cascada de síntesis de las PGs. Hace tiempo, se ha sugerido que la base bioquímica del FAS podía ser la interferencia del etanol con el metabolismo de los ácidos grasos esenciales y la síntesis de PGs en el feto (56). La exposición aguda a alcohol incrementa la concentración cortical de PGE en el ratón adulto (57). Solamente 0.6 g / kg de etanol en forma aguda, aunque también crónica, aumenta significativamente los niveles cerebrales de PGE (58). Estos antecedentes sugieren que el normal desarrollo embriofetal requiere adecuadas cantidades de prostanoïdes y que la disrupción de su vía de síntesis llevará al desarrollo de anomalías del desarrollo (26,59). Tal es así, que algunos autores vieron que el patrón de PGE estaría asociado con eventos morfogenéticos del cierre del tubo neural y la formación del SNC, durante la organogénesis, y que las PGs estarían involucradas en los mecanismos celulares de este proceso y en la regulación del crecimiento del embrión (60).

A pesar de estos estudios, poco se ha esta-

blecido acerca de la inducción de alteraciones en los niveles de prostanoïdes embrionarios luego de la ingesta periconcepcional de alcohol. Estudios actuales recientes, proveen evidencia que dicho período de consumo de alcohol produce alteraciones en la síntesis de PGs embrionarias. Así se observó que los embriones organogénicos provenientes de madres intoxicadas antes y durante la preñez, presentan niveles elevados intracelulares de PGE, junto con aumento de su síntesis aunque con reducida capacidad de liberación, posiblemente por deterioro del transporte por daño en la membrana. Estas alteraciones se han asociado con los efectos deletéreos sobre el crecimiento y diferenciación del embrión. Por otro lado, se vio que la sobreproducción de PGs induce la formación de elevados niveles de ROS (61,62,63). Este incremento en presencia de elevados niveles de óxido nítrico (NO) conduce a la formación de peroxinitritos, moléculas que por ser altamente reactivas con las proteínas, lípidos y material nuclear, provocan lipoperoxidación, daño proteico y en alteraciones en el ADN.

#### **Alteraciones en el óxido nítrico y vías relacionadas**

Otro factor propuesto de importancia que participa en los eventos del desarrollo embrionario, es el NO. Esta molécula gaseosa ejerce múltiples acciones, como la regulación de la actividad de diversas enzimas, por ejemplo la ciclooxigenasa (enzima de la síntesis de prostanoïdes), o el incremento de mensajeros intracelulares. El NO está presente en el neuroepitelio del tubo neural del embrión organogénico (64). Recientemente se sugirió que niveles alterados de NO, diferentes a los óptimos juegan un rol importante en el control de los ciclos de proliferación en la neurogénesis del SNC (65). Así es que el aumento de NO desregula el ciclo celular y aumenta los índices de apoptosis (muerte celular) en el tejido.

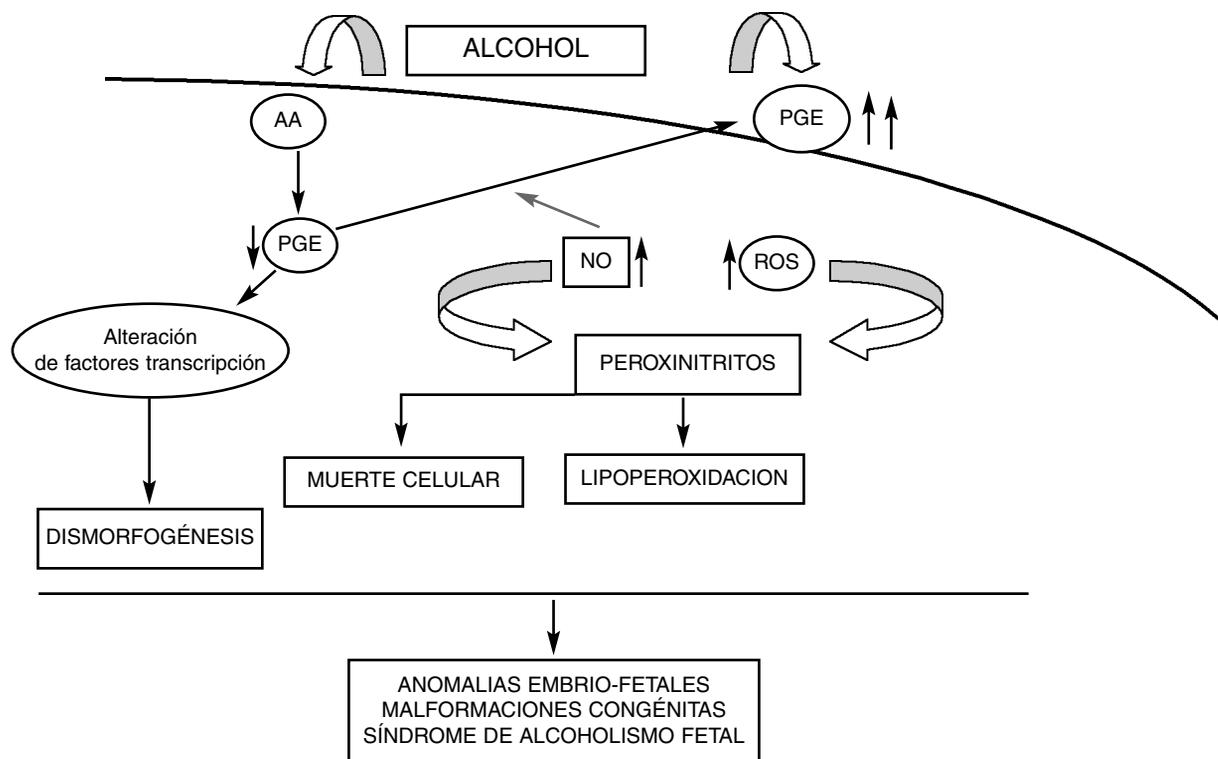
Por otro lado, en diversos tejidos y órga-

nos (hipotálamo, útero, ovario, entre otros) existe una relación entre el NO y las PG (66), donde el NO estimula la producción de PG (67,68,69,70). Esta interrelación o modulación de los niveles de PGs por el NO, de crucial importancia para el normal crecimiento y desarrollo embriofetal, se ha encontrado en el durante la organogénesis embrionaria normal, mientras que en algunas patologías se observaron alteraciones en esta modulación, como es el caso del embrión de rata diabético (71). Posteriormente al tratamiento prolongado materno de alcohol administrado antes y durante la gestación, se observó una importante desregulación de este mecanismo (72). Se sugirió que dichas alteraciones en la modulación NO-PG embrionaria, como ocurre en otras patologías, pueden estar relacionadas con niveles elevados de ROS y NO, que finalmente llevará a la generación de peroxinitritos (73,74) y la inducción de anomalías del desarrollo del tubo neural y SNC embriofetal.

En la Figura 4 se esquematiza la interrelación entre algunos mecanismos implicados en la teratogenicidad producida por la ingesta materna de alcohol.

#### **Conclusiones**

Por lo tanto, las investigaciones básicas y clínicas, relacionadas con el estudio de la patología de las malformaciones congénitas inducidas por el consumo materno de alcohol, constituyen en la actualidad áreas de importancia en el mejoramiento de la Salud Humana. Por ellas, se logrará conocer mejor y profundizar acerca de los efectos y mecanismos teratogénicos dados por el consumo materno de alcohol. Además, si bien existe un importante esfuerzo dedicado a la promoción de la prevención del abuso de alcohol por la madre, estos estudios permitirán plantear nuevas estrategias terapéuticas pre o postnatales, como la farmacológica y/o genómica, que eviten o minimicen la patología y malformaciones congénitas establecidas en el recién nacido.



El esquema resume los efectos y mecanismos que produce el consumo materno de alcohol en el embrión. El alcohol induciría alta producción de PGE que, por liberarse en grandes cantidades, estaría en bajos niveles intraembrionarios, lo que afectará la transducción de señales nucleares. El aumento de los niveles de producción de NO y ROS contribuirían a la desregulación de los niveles de síntesis de PGE y la generación de peroxinitritos (con NO y ROS) que darán origen a lipoperoxidación e inducción de apoptosis o muerte celular. Estos mecanismos serían algunos factores vinculados directamente con las anomalías morfológicas embriofetales y post-natales que induce la ingesta materna de alcohol.

Figura 4: Interrelación entre mecanismos de teratogenicidad producidos por la ingesta materna de alcohol.

**Bibliografía.**

1. Weston WM, Greene RM, Uberti M, Pisano MM. Ethanol effects on embryonic craniofacial growth and development: implications for study of fetal alcohol syndrome. *Alcohol Clin Exp Res* 1994;8(1):177-82
2. Sadler TW. *Langman Embriología Médica*. 7ma. Edición. Ed. Panamericana. 1996.
3. Abel E. *Fetal Alcohol Syndrome and fetal Effects*. New York: Plenum Press. 1984
4. West JR. Fetal alcohol-induced brain damage and the problem of determining temporal vulnerability: a review. *Alcohol Drug Res* 1987;7:423-41
5. Webster WS. Alcohol as a teratogen: a teratological perspective of the fetal alcohol syndrome. In: "Human metabolism of alcohol". Vol. III, (Crow, KE., and Batt RD. eds), CRC Press, Florida. Pp: 133-135. 1989
6. Streissguth AP, Aase JM, Clarren SK, Randels SP, LaDue RA, Smith DF. Fetal alcohol syndrome in adolescents and adults. *JAMA* 1991;265:1961-7
7. Jones KL, Smith DW. Recognition of fetal alcohol syndrome in early infancy. *Lancet* 1973;2:999-1001
8. Lewis DD, Woods SE. Fetal alcohol syndrome. *Am Fam Physician* 1994;50(5):1025-32, 1035-6
9. Mattson SN, Riley EP, Gramling L, Delis DC, Jones L. Neuropsychological comparison of alcohol-exposed children with or without physical features of fetal alcohol syndrome. *Neuropsychology* 1998;12:146-53
10. Streissguth AP, O'Malley K. Neuropsychiatric implications and long-term consequences of fetal alcohol spectrum disorders. *Semin Clin Neuropsychiatric* 2000;5:177-90
11. Mello NK, Mendelson JH, Teoh SK. Alcohol and neuroendocrine function in women of reproductive age. In: Mendelson, JH., and Mello NK. Eds. *Medical Diagnosis and Treatment in alcoholism*. 1 st. Ed. New York: McGraw-Hill. Pp: 575-621. 1992
12. Mello NK, Bree MP, Mendelson JH, Ellingboe J, King NW, Sehgal P. Alcohol self-administration disrupts reproductive function in female macaque monkeys. *Science* 1983;22:677-9
13. Krueger WA, Bo J, Rudeen P. Estrous cyclicity in rats fed and ethanol diet for 4 months. *Pharmacol Biochem Behav* 1983;19:583-5
14. Canteros MG, Franchi A, Suburo A, Genaro A, Cebral E, Rettori V. Mecanismos de acción del etanol sobre la secreción de LHRH. *APPTLA* 1995;45:53-63
15. Canteros MG, Rettori V, Franchi A, Genaro A, Cebral E, Faletti A, Gimeno MA, Mc Cann S. Ethanol inhibits luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) secretion by blocking the response of LHRH neuronal terminals to nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci* 1995;92:3416-20
16. Valimaki M, Pelkonen R, Harkonen M, Tuomala P, Koistinen P, Roine R, Ylikahri R. Pituitary gonadal hormones and adrenal androgens in non-cirrhotic female alcoholics after cessation of alcohol intake. *Eur J Clin Invest* 1990;20:177-81
17. Valimaki M, Pelkonen R, Salaspuro M, Harkonen M, Hirvonen E, Ylikahri R. Sex hormones in amenorrheic women with alcoholic liver disease. *J Clin Endocrinol Metabol* 1984;59:133-8
18. Mello NK. Effects of alcohol abuse on reproductive function in women. In: Galanter, M. ed. *Recent Development in Alcoholism*. New York: Plenum Publishing Corp. pp: 253-276. 1988
19. Mello NK, Mendelson JH, Palmieri S, Lex BW, Teoh SK. Operant acquisition of alcohol by women. *J. Pharmacol Exp Ther* 1990;253:237-45
20. Teoh SK, Mendelson H, Mello NK, Skupny A, Ellingboe J. Alcohol effects on hCG-stimulated gonadal hormones in women. *J Pharmacol Exp Ther* 1990;254: 407-11
21. Gavalier JS. Alcohol effects in postmenopausal women. In: Mendelson, JH., and Mello, NK. Eds. *Medical Diagnosis and Treatment of alcoholism*. 1st. ed. New York: McGraw-Hill, pp: 623-638. 1992
22. Cebral E, Lasserre A, Faletti A, Gimeno MAF. Response to ovulatory induction following moderate chronic ethanol administration in mice.. *Med Sci Res* 1998; 26: 29-31
23. Cebral E, Lasserre A, Motta A, Gimeno MAF. Mouse oocyte quality and prostaglandin synthesis by cumulus oocyte complex after moderate chronic ethanol intake. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 1998; 58 (5): 381-7
24. Cebral E, Motta A, Gimeno MAF. Low chronic ethanol consumption affects the ovulation and PGE synthesis by cumulus cell masses, in mice. *Prost. Leuk. And Ess. Fatty Ac.* 1999;60:95-100
25. Cebral E, Lasserre A, Rettori V, Gimeno MAF. Impaired mouse fertilization by low chronic

- alcohol treatment Alcohol Alcohol, 1997;32:563-72
26. Cebral E, Motta A, Boquet M, Gimeno MAF. Effects of low chronic ethanol exposure on prostaglandin E synthesis by preimplantation mouse embryos. *Prost Leuk Ess Fatty Ac* 1998;58:249-55
  27. Cebral E, Lasserre A, Rettori V, Gimeno MAF. Deleterious effects of chronic moderate alcohol intake by female mice on in-vitro preimplantation embryo-growth. *Alcohol Alcohol* 1999;34:551-8
  28. Cebral E, Lasserre A, Rettori V, Gimeno MAF. Alterations in preimplantation in-vivo development after preconceptional chronic moderate alcohol consumption, in female mice. *Alcohol Alcohol* 2000;35:336-43
  29. Cebral E, Rettori V, Gimeno MAF. Impact of chronic low-dose alcohol ingestion during sexual maturation of female mice on in-vitro and in-vivo embryo development. *Reprod Toxicol* 2001;15:123-9
  30. Checiu, M, Sandor S. The effect of ethanol upon early development in mice and rats. IX. Late effect of acute preimplantation intoxication in mice. *Morphol Embryol* 1986;32:5-11
  31. Stachecki JJ, Yelian FD, Leach RE, Armant DR. Mouse blastocyst outgrowth and implantation rates following exposure to ethanol or A23187 during culture in vitro. *J Reprod Fertil* 1994;611-7
  32. Stachecki JJ, Yelian FD, Schultz JF, Leach RE, Armant DR. Blastocyst cavitation is accelerated by ethanol-or ionophore-induced elevation of intracellular calcium. *Biol Reprod* 1994;50:1-9
  33. Cebral E. Development and morphogenesis of postimplantational mouse embryo and early placentation following alcohol exposure before and during gestation. *Observaciones no publicadas, Enviado.* 2006.
  34. Sulik KK, Johnston MC. Embryonic origin of holoprosencephaly: interrelationship of the developing brain and face. *Scan Electron Microsc* 1982;1:309-22
  35. Sulik KK, Lauder JM, Dehart DB. Brain malformations in prenatal mice following acute maternal ethanol administration. *Int J Dev Neurosci* 1984;2:203-14
  36. Webster WS, Walsh DA, Lipson AH, McEwen SE. Teratogenesis after acute alcohol exposure in inbred and outbred mice. *Neurobehav Teratol* 1980;2:227-34
  37. Schambra UB, Lauder JM, Petrusz P, Sulik KK. Development of neurotransmitter systems in the mouse embryo following acute ethanol exposure.: a histological and immunocytochemical study. *Int J Dev Neurosci* 1990;8:507-22
  38. Sulik KK, Johnston MC, Webb MA. Fetal alcohol syndrome: embryogenesis in a mouse model. *Science* 1981;214:936-8
  39. Sulik KK, Johnston MC, Daft PA, Russel WE, Dehart DB. Fetal alcohol syndrome and DiGeorge anomaly: critical ethanol exposure periods for craniofacial malformations as illustrated in an animal model. *Am J Med Genet Suppl* 1986;2:97-112
  40. Kotch LE, Sulik KK. Patterns of ethanol-induced cell death in the developing nervous system of mice: neural fold states through the time of anterior neural tube closure. *Int J Dev Neurosci* 1992;10:273-9
  41. Dunty WC, Zucker RM, Sulik KK. Hindbrain and cranial nerve dysmorphogenesis result from acute maternal ethanol administration. *Dev Neurosci* 2002;24:328-42
  42. Schenker S, Becker HC, Randall CL, Phillips DK, Baskin GS, Henderson GI. Fetal alcohol syndrome: current status of pathogenesis. *Alcohol Clin Exp Res* 1990;14:635-47
  43. Goodlett CR, Horn KH, Zhou FC. Alcohol teratogenesis: mechanisms of damage and strategies for intervention. *Exp Biol Med* 2005;230:394-406
  44. Henderson GI, Chen JJ, Schenker S. Ethanol, oxidative stress, reactive aldehydes, and the fetus. *Front Biosci* 1999;4: D541-D550
  45. Chen S-Y, Sulik KK. Free radical and ethanol-induced cytotoxicity in neural crest cells. *Alcohol Clin Exp Res* 1996;20:1071-6
  46. Montoliu C, Sancho-Tello M, Azorin I, Burgal M, Valles S, Renau-Piqueras J, Guerri C. Ethanol increases cytochrome P450E1 and induces oxidative stress in astrocytes. *J Neurochem* 1995;65:2561-70
  47. Ramachandram V, Watts LT, Maffi SK, Chen J, Schenker S, Henderson G. Ethanol-induced oxidative stress precedes mitochondrially mediated apoptotic death of cultured fetal cortical neurons. *J Neurosci Res* 2003;74:577-88
  48. Heaton MB, Paiva M, Mayer J, Miller R. Ethanol-mediated generation of reactive oxygen species in developing rat cerebellum. *Neurosci Lett* 2002;334:83-6
  49. Sulik KK. Genesis of alcohol-induced craniofacial dysmorphism. *Exp Biol med* 2005;230:366-75

50. Smith WL. The eicosanoids and their biochemical mechanisms of action. *Biochem J* 1989; 259: 315-24
51. Lupulescu A. Heavy incorporation of <sup>3</sup>H prostaglandin F<sub>2</sub> alpha in the neoplastic cells as revealed by autoradiographic studies. *Experientia* 1980;36:246-7
52. Persaud TVN. The effects of prostaglandin E<sub>2</sub> on pregnancy and embryonic development in mice. *Toxicology* 1975;5:97-101
53. Randall CL, Anton RF, Becker HC. Alcohol, pregnancy and prostaglandins. *Alcohol Clin Exp Res* 1987;11:32-6
54. Randall CL, Anton RF, Becker HC. Effect of indomethacin on alcohol-induced morphological anomalies in mice. *Life Sci* 1987;41:361-9
55. Randall CL, Anton RF, Becker HC, Hale RL, Ekblad, U. Aspirin dose-dependently reduces alcohol-induced birth defects and prostaglandin E levels in mice. *Teratology* 1991;44:521-9
56. Horrobin DF. A biochemical basis for alcoholism and alcohol-induced damage including the fetal alcohol syndrome and cirrhosis: interference with essential fatty acid and prostaglandin metabolism. *Med Hypotheses* 1980;6:929-42
57. George FR, Collins AC. Ethanol's behavioral effects may be partly due to increases in brain prostaglandin production. *Alcohol Clin Exp Res* 1985;9:143-6
58. Knapp DJ, Crews FT. Induction of cyclooxygenase-2 in brain during acute and chronic ethanol treatment and ethanol withdrawal. *Alcohol Clin Exp Res* 1999;23:633-43
59. Jawerbaum A, Gonzalez E, Novaro V, Faletti A, Sinner D, Gimeno MA. Increased prostaglandin E generation and enhanced nitric oxide synthase activity in non-insulin dependent diabetic embryo during organogenesis. *Reprod Fertil Dev* 1998;10:191-6
60. Jawerbaum A, Gonzalez E, Sinner D, Pustovrh C, White V, Gimeno MA. Diminished PGE<sub>2</sub> content, enhanced PGE<sub>2</sub> release and defects in <sup>3</sup>H-PGE<sub>2</sub> transport in embryos from overt diabetic rats. *Reprod Fertile Dev* 2000;12:141-7
61. Kukreja RC, Lontos HA, Hess ML, Ellis EF. PGH synthase and lipoxygenase generate superoxide in the presence of NADH and NADPH. *CircRes* 1986;59:612-9
62. Morrow JD, Awad A, Kato T, Takahahi K, Badr KF, Roberts LJ II. Formation of novel non-cyclooxygenase-derived prostanoids (F<sub>2</sub>-isoprostanes) in carbon tetrachloride hepatotoxicity: an animal model of lipid peroxidation. *J Clin Invest* 1992;90:2502-7
63. Morrow JD, Frei B, Longmire AW, Gaziano JM, Lynch SM, Shyr Y, Strauss WE, Oates JA, Roberts LJ 2nd. Increase in circulating products of lipid peroxidation (F<sub>2</sub> isoprostanes) in smokers. *New Engl J Med* 1995;332:1198-203
64. Traister A, Abashidze S, Gold V, Plachta N, Karchovsky E, Patel K, Weil M. Evidence that nitric oxide regulate cell-cycle progression in the developing chick neuroepithelium. *Dev Dynamic* 2002;225:271-6
65. Plachta N, Traister A, Weil M. Nitric oxide is involved in establishing the balance between cell cycle progression and cell death in the developing neural tube. *Exp Cell Res* 2003;288: 354- 62
66. Di Rosa M, Ialenti A, Ianaro A, Sautebin L. Interaction between nitric oxide and cyclooxygenase pathways. *Prost Leuk Ess Fatty Ac* 1996;54:229-39
67. Rettori V, Gimeno MA, Lyson K, McCann SM. Nitric oxide mediates norepinephrine induced prostaglandin E<sub>2</sub> release from hypothalamus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:11543-4
68. Franchi A, Chaud M, Rettori V, Suburu A, McCann SM, Gimeno MA. Role of nitric oxide in eicosanoid synthesis and uterine motility in estrogen-treated rat uteri. *Proc Nat Acad Sci USA* 1994;91:539-43
69. Jawerbaum A, Gonzalez E, Faletti A, Novaro V, Gimeno MA. Nitric oxide mediates human chorionic gonadotrophin-induced prostaglandin E generation in rat oocyte-cumulus complexes. *Reprod Fertil Dev* 1997;9:391-4
70. Gonzalez E, Jawerbaum A, Novaro V, Sinner D, Gimeno MA. Nitric oxide modulates placental prostanoid production from late pregnant non-insulin dependent diabetic rat. *Prost Leuk Ess Fatty Ac* 1998;59:299-304
71. Jawerbaum A, Sinner D, White V, Pustovrh C, Capobianco E, Gimeno MAF, Gonzalez ET. Modulation of pGE<sub>2</sub> generation in diabetic embryo: effect of nitric oxide and superoxide dismutase. *Prost Leuk Ess Ac Fatty* 2001;64: 127-33
72. Cebal E, Faletti A, Jawerbaum A, Paz D. Periconceptional alcohol consumption-induced changes in embryonic prostaglandin E levels in mouse organogenesis. Modulation by nitric oxide. *Prost. Leuk Ess Ac Fatty*, (en revisión, no publicado). 2006.
73. Naasila M, Beauge F, Daoust M. Regulation of rat neuronal nitric oxide synthase activity by chronic alcoholization. *Alcohol Alcohol* 1997;32:13-7

74. Xia J, Simonyi A, Sun GY. Chronic ethanol and iron administration on iron content, neuronal nitric oxide synthase and superoxide dismutase in rat cerebellum. *Alcohol Clin Exp Res* 1999;23:702-7

75. Riley EP, McGee CL. Fetal alcohol spectrum disorders: an overview with emphasis on changes in brain and behavior. *Exp Biol Med* 2005;230:357-65