

Efectos del consumo materno de alcohol durante la gestación. Estudio experimental

**Dr. E. Herrera, Dr. D. López, Dr. X. Textar,
Dr. A. Zorzano y Dr. M. Llobera**

*Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina; Universidad
de Alcalá de Henares, Madrid.
Cátedra de Fisiología General, Facultad de Ciencias
Universidad de Barcelona.
Departamento de Investigación
Centro Ramón y Cajal, Madrid*

Summary

Ethanol is transformed in the mother by the catalytic action of alcohol and acetaldehyde-dehydrogenases, and the products of these reactions (NADH and acetaldehyde) are responsible for most of the negative effects of ethanol. Ethanol crosses the placenta freely, reaching in the fetal circulation the same levels as in the mother. The placenta has the capacity to oxidize acetaldehyde, thus maternal acetaldehyde does not reach the fetus. Besides this, the fetus does not have ethanol-metabolizing enzymes. By using the rat as an experimental model, we have found that metabolites known to cross the placenta such as glucose and ketone bodies vary in the fetus in a parallel manner as in the mother after alcohol intake. However, compounds known not to cross the placenta such as triglycerides do not change in the fetus whereas they increase in both plasma and liver of the mother after alcohol intake. After birth, retarded development of newborns from mothers receiving alcohol throughout gestation is progressively recuperated, but this recuperation depends on the parameter studied and the nutritional and environmental condition.

The animal model herein used is valid for studies on the fetal alcohol syndrome, and although extrapolation to humans must be done with caution, present results indicate that most negative effects of maternal alcohol ingestion on the fetus are secondary to ethanol action on maternal metabolism, and they may be ameliorated by an adequate postnatal nutritional condition.

La evidencia de los efectos negativos de la ingestión de alcohol durante la gestación sobre el desarrollo fetal (1, 2), y el progresivo incremento de la incidencia del Síndrome de Alcohol Fetal (FAS) (2, y las propias presentaciones de este Simposio), obligan a estudiar los mecanismos a través de los cuales se producen, así como determinar los posibles factores que puedan llegarlos a aminorar y/o compensar. Para conocer estos aspectos, se requiere un estricto control de las condiciones experimentales, e incluso interrumpir la gestación, para establecer los cambios que se producen tanto en la madre como en sus fetos, tras la ingestión de alcohol en determinadas etapas. Por razones éticas obvias, este tipo de estudios ha de realizarse en animales experimentales. Se han utilizado numerosos modelos y diseños experimentales, que logran reproducir en animales del laboratorio diversos aspectos del FAS, y la bibliografía referente al tema ha sido revisada recientemente por nosotros (3, 4).

Durante los últimos cuatro años hemos venido utilizando la administración de etanol en el agua de bebida a la rata, para estudiar la forma en que la ingestión de alcohol durante la gestación modifica las relaciones metabólicas feto/madre, y las repercusiones que ello tiene en el desarrollo corporal, neuronal y metabólico de las crías. Una parte de los resultados obtenidos han sido publicados recientemente (3-9), y aquí vamos a hacer un resumen de ellos, junto con otros hallazgos y comentarios, aún no publicados. Con este abordaje experimental, hemos pretendido lograr conocer algunos aspectos básicos de los mecanismos moleculares por los que el alcohol que llega al feto modifica dichos parámetros. Parte de estos mecanismos son consecuencia de la forma en que la madre metaboliza el alcohol que ingiere, por lo que vamos a describir brevemente este proceso.

Metabolismo del etanol

En el adulto, el etanol que se ingiere es absorbido rápidamente por el tracto gastrointestinal, y en su mayor parte llega al hígado, donde es preferentemente oxidado a acetaldehído. Esta oxidación es catalizada por tres enzimas distintas (Fig. 1), que varían su contribución al proceso en función de varios factores, entre los que cabe destacar la propia concentración de alcohol en sangre y la situación metabólica y endocrina del individuo. La primera de estas enzimas es la alcohol deshidrogenasa (ADH), que es la que contribuye con mayor eficacia a la oxidación del etanol (10). Es una enzima citosólica, dependiente de NAD⁺, que se ha encontrado en varios tejidos, tanto en humanos (4, 11) como en la rata (4, 12, 13), pero que presenta su máximo de actividad en hígado. La segunda de es-

Las enzimas que catalizan la oxidación del etanol es una catalasa, que utiliza peróxido de hidrógeno como agente oxidante (14), mientras que la tercera es realmente un «sistema multienzimático microsomal» (MEOS), que utiliza NADPH y oxígeno molecular (15). Independientemente de la importancia comparativa de estas vías, en todas ellas el acetaldehído es el producto inmediato de la oxidación del etanol (Fig. 1), y el proceso siempre tiene lugar fuera de las mitocondrias.

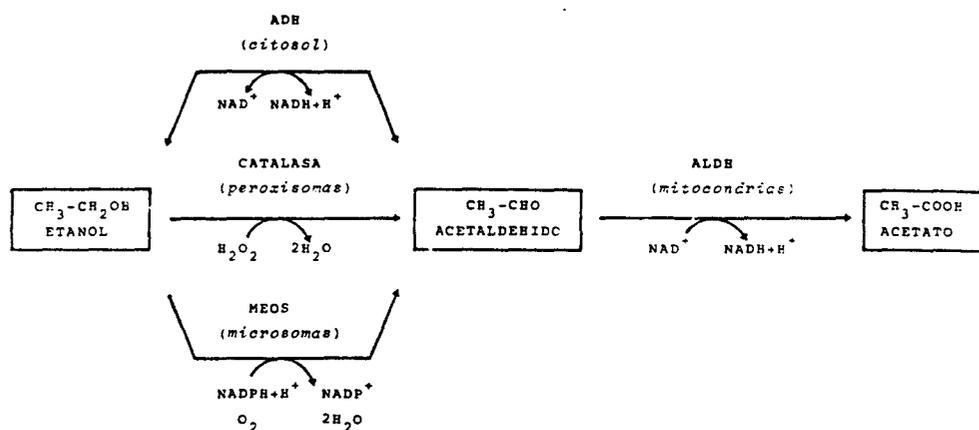


Figura 1. Esquema de la metabolización del etanol hasta acetato.

El acetaldehído entra al interior de las mitocondrias, donde la acetaldehído deshidrogenasa (ALDH) lo oxida a acetato, en una reacción que es dependiente de NAD^+ , como lo era la catalizada por la ADH en el citosol (Fig. 1). El acoplamiento de estas reacciones produce un incremento del potencial reductor extra e intra-mitocondrial, como ya hemos descrito con mayor detalle en anteriores ocasiones (3, 4). Dicho incremento del potencial reductor es responsable de gran parte de los efectos metabólicos de la ingestión del etanol (incremento de la lipogénesis, inhibición de la oxidación de ácidos grasos, del ciclo del ácido cítrico, de la gluconeogénesis, etc.).

Una parte del acetaldehído formado en el hígado tras la oxidación del etanol difunde a la circulación, alcanzando a los tejidos extrahepáticos, donde se metaboliza. De hecho, a diferencia de la ADH, la ALDH se encuentra presente prácticamente en todos los órganos y tejidos donde se ha buscado (incluyendo los eritrocitos de la sangre) (16), por lo que su oxidación puede tener lugar en otros tejidos diferentes al hígado. A este acetaldehído que circula por sangre y llega a los tejidos extrahepáticos, se le han achacado también parte de los efectos negativos del alcohol. Por ejemplo, se le han achacado también parte de los efectos negativos que produce la ingestión de etanol sobre los neurotransmisores cerebrales (17), e incluso de su toxicidad.

Metabolismo del etanol en la madre gestante, y su llegada al feto

Desde finales del siglo pasado se conoce que el alcohol ingerido por la madre alcanza al feto en concentraciones que se aproximan a las de la circulación materna (18). De hecho, como se observa en la figura 2, cuando nosotros damos alcohol a la rata preñada, éste alcanza en la sangre de los fetos y en el líquido amniótico la misma concentración que en la circulación materna. Esto concuerda con el hecho demostrado por otros autores de que el etanol cruza libremente la placenta (19). Como también se observa en la figura 2, la concentración de etanol que se alcanza en la sangre de la rata preñada a las 3 h de la ingestión oral de 4 g de etanol/kg de peso corporal, es igual a la que aparece en la sangre de ratas vírgenes que han sido tratadas de igual forma. Ello indica que la gestación no afecta la distribución corporal del etanol que ingiere la madre, precisamente gracias a su fácil transferencia placentaria.

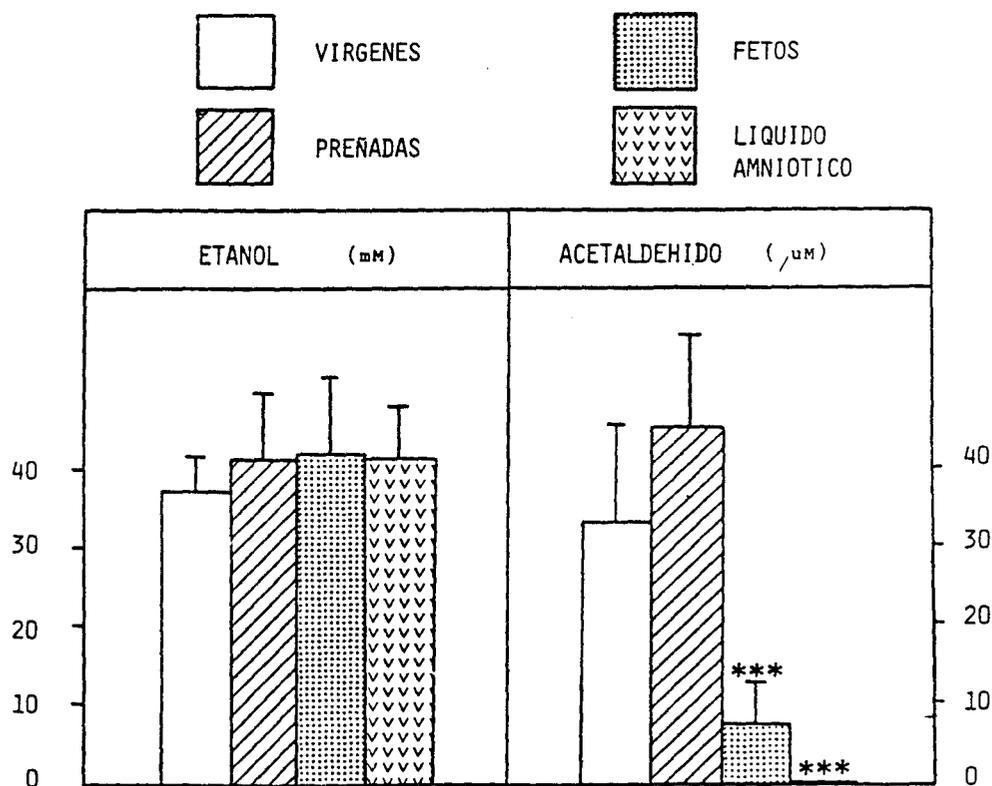


Figura 2. Niveles de etanol y acetaldehído en sangre y líquido amniótico a las 3 horas de la administración oral de 4 g de etanol/kg de peso corporal, a ratas vírgenes y preñadas (21 días de gestación). La comparación estadística entre los valores de vírgenes y preñadas no es significativa para ambos parámetros; la de los fetos y líquido amniótico frente a los valores en las madres se representa por asteriscos: *** = $p \leq 0.001$.

A diferencia de lo que ocurre con los valores de etanol, la concentración de acetaldehído en sangre de la rata gestante es ligeramente superior a la que aparece en la rata virgen (Fig. 2). Esto no parece deberse a una distinta velocidad de aparición de acetaldehído en sangre, sino más bien a un «incremento de su concentración», por no llegar a distribuirse en las estructuras fetales. De hecho, como se observa en la figura 2, la sangre fetal presenta cantidades prácticamente indetectables de acetaldehído, y en el líquido amniótico es cero. Este aumento de la concentración de acetaldehído en la sangre materna no llega a ser significativo con relación a los valores presentes en las ratas vírgenes (Fig. 2), posiblemente porque la presencia de actividad de ALDH en la placenta (20) está acelerando la degradación de dicho metabolito, compensando así la posibilidad de un mayor incremento.

La ausencia de acetaldehído en la sangre fetal y el líquido amniótico tras la ingestión de alcohol por la madre, permite hacer tres consideraciones que creemos importantes: 1. En la última parte de la gestación, la oxidación de acetaldehído por la placenta es suficiente para impedir la llegada de acetaldehído al feto. Realmente, la concentración de acetaldehído que nosotros hemos detectado en la sangre materna tras la ingestión de etanol (Fig. 2) es muy elevada, y difícilmente se supera en humanos, incluso consumiendo cantidades muy altas de etanol. Por ello, cabe sugerir que la ingestión de etanol en la mujer embarazada no produce la llegada de acetaldehído al feto. 2. El feto no tiene capacidad para metabolizar el alcohol que le llega a través de la placenta. En caso contrario tendría que aparecer acetaldehído en la sangre fetal tras la ingestión de etanol por la madre, lo cual no ocurre, como se observa en la figura 2. Esta aseveración se fundamenta también en el hecho de que, al igual que se ha descrito para el feto humano (21), nosotros hemos encontrado actividades muy bajas de ADH en el hígado de los fetos de rata, a los 17, 19 ó 21 días de vida intrauterina (Tabla 1). La incapacidad del feto para metabolizar el alcohol que le llega de la madre, y su inasequibilidad al acetaldehído que alcanza a la placenta por el lado materno, permiten sugerir que el daño que la ingestión de alcohol en la madre produce sobre el desarrollo fetal es, bien consecuencia de efectos inespecíficos del alcohol sobre las estructuras fetales, o bien el resultado indirecto de los efectos metabólicos que el alcohol tiene en la madre, modificando de alguna forma la disponibilidad de los sustratos metabólicos que normalmente cruzan la placenta. Verdaderamente, no conocemos cuál de estas dos posibilidades es la correcta, pero ambas pueden estar participando simultáneamente, aunque con distinta intensidad, según la fase del desarrollo fetal. Así, por ejemplo, se ha des-

TABLA 1
ACTIVIDADES DE ALCOHOL DESHIDROGENASA (ADH) EN HIGADO
DE FETO DE RATA Y ANIMALES ADULTOS
 (Las actividades enzimáticas se determinaron a pH 8,8, y con una concentración de sustrato de 16,7 mM, en espectrofotómetro de alta sensibilidad)

	Unidades/g
Fetos de 17 días	0 - 0 (indetectable)
Fetos de 19 días	0 - 0.1
Fetos de 21 días	0 - 0.4
Animales adultos	2.2 - 3.4

crito recientemente que la administración de una dosis única de alcohol a la rata preñada en una fase tan precoz de la gestación como es el 4.º día después de la fecundación, produce una alteración en el desarrollo cerebral de las crías, que se pone de manifiesto por cambios en los niveles de neurotransmisores en cerebro al nacimiento (22). Esta alteración no se produce, sin embargo, cuando la madre recibe la misma dosis de alcohol durante la segunda mitad de la preñez (22). Ello indica que, para que se produzca un daño fetal por la ingestión de alcohol en la madre durante la segunda mitad de la gestación, se requieren tratamientos más prolongados y a mayor dosis que en la primera mitad, capaces de modificar, a su vez, la cantidad (e incluso la naturaleza) de los nutrientes que atraviesan la placenta.

Relaciones metabólicas feto/madre tras la ingestión de alcohol

El feto recibe los sustratos metabólicos de la madre a través de la placenta por mecanismos diversos (difusión facilitada, como en el caso de la glucosa; transporte activo, como en el caso de los aminoácidos; difusión simple, como en el caso de los cuerpos cetónicos), pero siempre por un mecanismo dependiente de su concentración en la circulación materna (23). Es evidente, por tanto, que cambios metabólicos en la madre repercutan en la llegada de dichos sustratos al

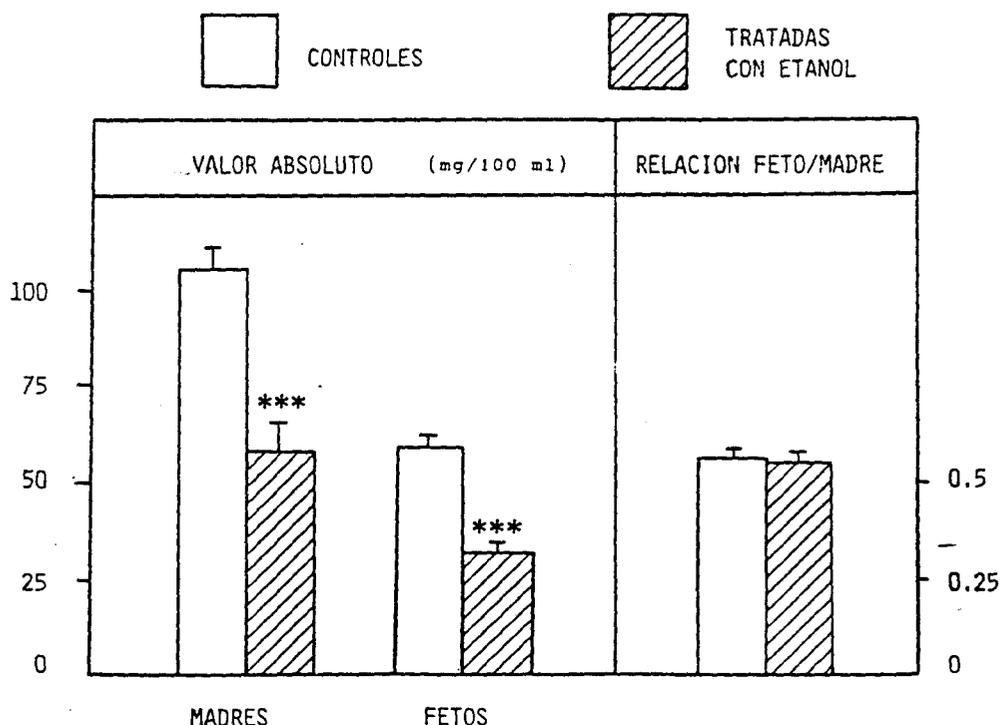


Figura 3. Efecto de la ingestión crónica de etanol (25 %, en el agua de bebida) durante la gestación, sobre los niveles de glucosa en sangre, en ratas preñadas a los 21 días de gestación. La comparación estadística entre ratas tratadas con etanol y controles se representa por asteriscos: *** = $p \leq 0.001$.

feto. Nosotros hemos estudiado recientemente la respuesta metabólica de la rata preñada a la ingestión aguda de etanol. Hemos observado que cuando la administración se realiza en animales alimentados, el alcohol produce en la madre un incremento en plasma de los niveles de glucosa y de la relación de β -hidroxibutirato/acetato, y que este cambio se observa de forma paralela en sus respectivos fetos (24).

Era importante determinar si el feto seguía también los cambios metabólicos que ocurrían en la madre por la ingestión de alcohol, cuando esta se realizaba de forma crónica. Con este propósito, se sometieron ratas hembras al tratamiento de dosis crecientes de alcohol en el agua de bebida, hasta llegar a la concentración de 25 % de etanol. Una vez alcanzada esta dosis, se cruzaron los animales y se mantuvieron con este tratamiento durante toda la gestación. De forma paralela se siguieron ratas controles, sometidas a las mismas condiciones ambientales, pero sin ingestión de alcohol, y todos los animales se sacrificaron al día 21 de preñez. Como se observa en la figura 3, los niveles de glucosa en sangre estaban disminuidos en las madres tratadas con alcohol en relación a sus controles. En los fetos de madres que ingerían alcohol, los niveles de glucosa en sangre también estaban disminuidos con relación a sus controles y, de hecho, la relación feto/madre de glucosa sanguínea no difería entre los dos grupos experimentales. Así pues, al igual que con el tratamiento agudo, vemos cómo ante un metabolito que cruza la placenta (la glucosa), la ingestión crónica de alcohol en la madre preñada produce un efecto similar en la madre y en sus fetos.

El paralelismo de los cambios metabólicos entre la madre y sus fetos, cuando aquélla ingiere alcohol, se rompe cuando el metabolito no cruza la placenta. Así, por ejemplo, como vemos en la figura 4, mientras que la ingestión crónica de alcohol en la madre produce un incremento de la concentración de triglicéridos en plasma y en el hígado de la madre, no modifica estos parámetros en el feto (en la figura no se muestran los valores de triglicéridos en plasma fetal porque eran prácticamente indetectables, y su valor igualmente bajo en los fetos de ratas controles y de las tratadas con alcohol).

Estos resultados de parámetros metabólicos de ratas preñadas tratadas de forma aguda o crónica con alcohol, y sus respectivos fetos, nos permiten concluir que el feto sigue de forma pasiva los cambios metabólicos de la madre, cuando se trata de sustratos que cruzan la placenta. Por el contrario, aquellos cambios producidos por el alcohol en metabolitos maternos que no puede cruzar la placenta, no repercuten de forma directa en el feto. La repercusión ha de ser indirecta y, de hecho, el observado incremento de la hipertrigliceridemia gestacional en la madre que ingiere alcohol, ha de afectar de forma negativa la disponibilidad de otros sustratos hacia el feto. Dicho incremento de triglicéridos plasmáticos en la madre ha de ser el resultado de una aumentada síntesis de aquéllos (recuérdese que el alcohol estimula la lipogénesis, como hemos comentado en la primera parte de este trabajo), lo que conllevará una disminución de la disponibilidad de sustratos lipogénicos para el feto.

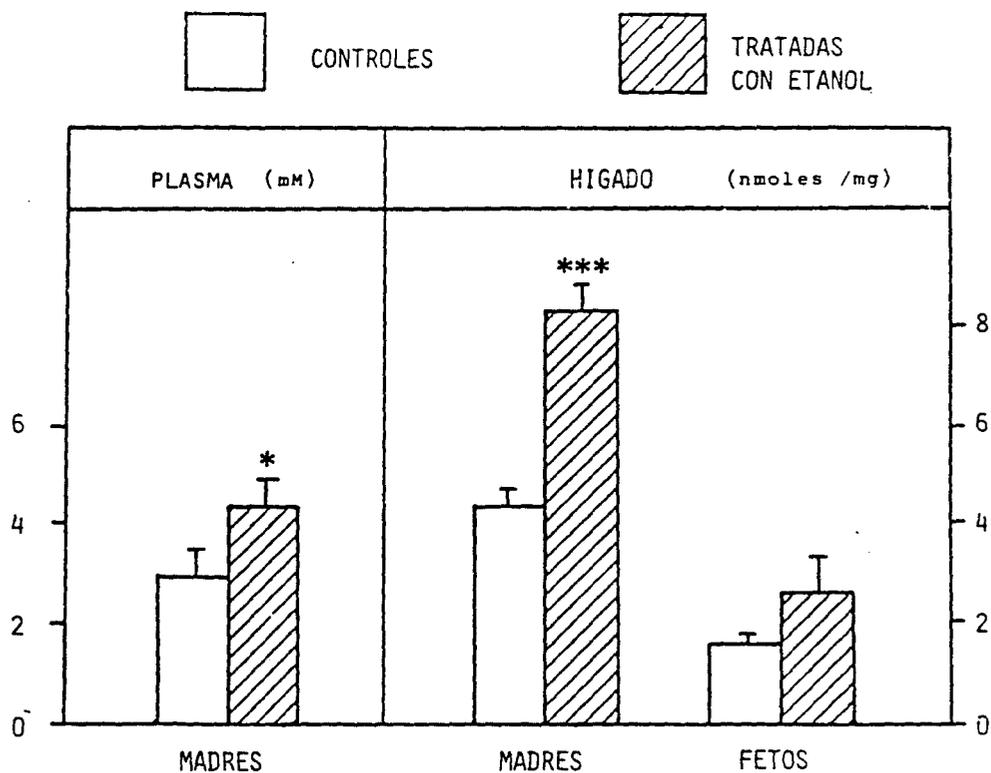


Figura 4. Efecto de la ingestión crónica de etanol (25 % en el agua de bebida) durante la gestación sobre la concentración de triglicéridos en plasma e hígado, en ratas preñadas, a los 21 días de la gestación. La comparación estadística entre ratas tratadas con etanol y controles se representa por asteriscos: * = $p < 0,05$; *** = $p < 0,001$.

Maduración postnatal de las crías de madres que han ingerido alcohol durante la gestación

Con la finalidad de comprobar si nuestro modelo experimental podría ser considerado válido para posteriores estudios del FAS, era importante conocer si las crías de las ratas que ingerieron alcohol durante la gestación tenían modificada su maduración corporal. Con este propósito estudiamos tanto parámetros de maduración física (peso, talla, apertura de párpados, etc.), como nerviosa (tests de comportamiento y parámetros bioquímicos cerebrales), en crías de madres que recibieron alcohol en la bebida durante la gestación, pero que fueron lactadas con madres nodrizas no-tratadas. Como ejemplo representativo de los resultados obtenidos, en la figura 5 hemos resumido los datos de uno de los tests de comportamiento estudiados, el denominado reflejo «air righting». Puede observarse cómo la adquisición de este reflejo se inicia en algunos miembros de la camada en las crías controles a partir de los 12 días de edad, mientras que a esta fecha no hay respuesta positiva en ninguna de las crías procedentes de madres que ingerieron alcohol durante la gestación. A su vez, a los 15 días del naci-

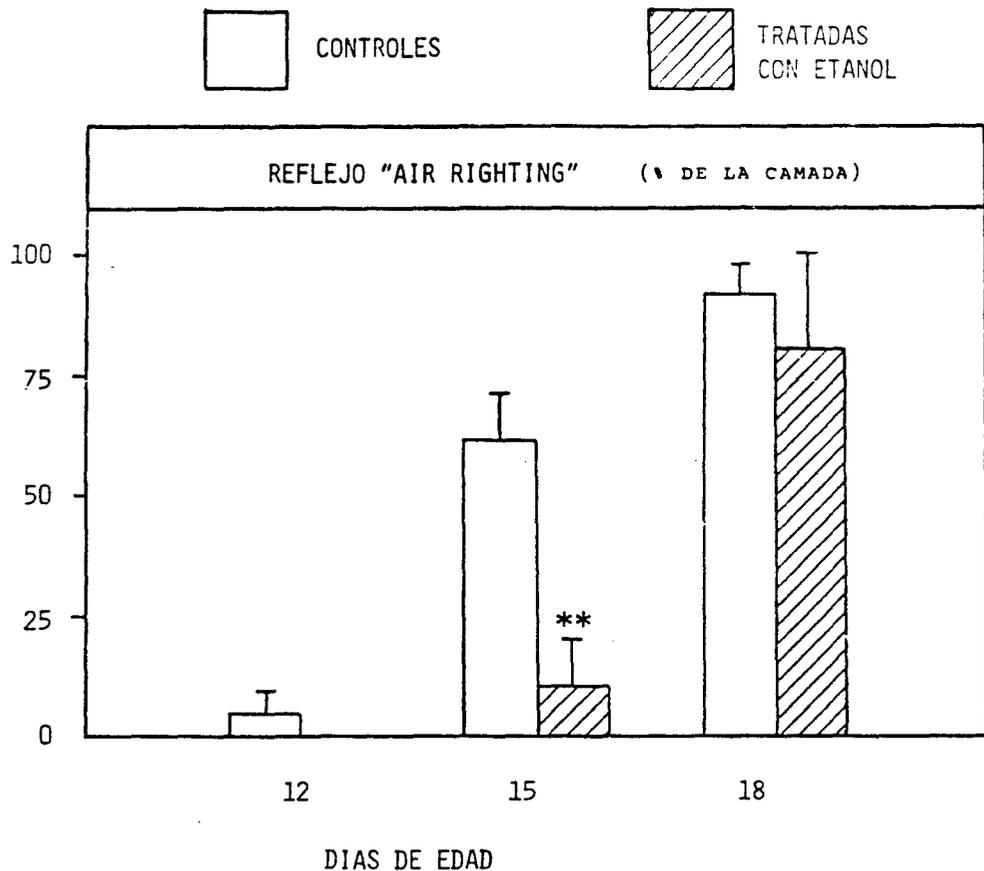


Figura 5. Efecto de la ingestión crónica de etanol (25 % en el agua de bebida) durante la gestación sobre la aparición del reflejo «air righting» en las crías de ratas. Durante la lactancia, dichas crías fueron alimentadas por nodrizas, que no habían ingerido alcohol. La comparación estadística entre las crías procedentes de ratas tratadas con etanol y controles se representa por asteriscos: * = $p < 0,05$.

miento hay una respuesta positiva en más del 60 % de las camadas de las crías procedentes de madres controles, mientras que no es más del 10 % en las de las madres que ingerieron alcohol, siendo significativa la diferencia entre ambos grupos experimentales.

Estos datos de maduración nerviosa coinciden también con el manifiesto retraso de parámetros corporales (7) y de aminas cerebrales (9), que hemos descrito anteriormente en animales sometidos a similares condiciones experimentales. En estos trabajos, ya publicados, hemos podido comprobar también que parte, aunque no todos, de los efectos negativos producidos por el alcohol durante la gestación sobre el desarrollo postnatal, están agravados por la malnutrición que acompaña a la ingestión de alcohol por la madre. En cualquier caso, el alcohol en la gestación es responsable directo de muchos de los efectos observados, y en la actualidad estamos realizando experimentos paralelos de ingestión de alcohol y malnutrición, para llegar a diferenciar de forma específica los efectos producidos por cada uno de estos factores, separadamente.

Consideraciones finales

Aunque los modelos experimentales para el estudio del FAS son imprescindibles para llegar a conocer muchos de los mecanismos por los que se produce, debemos concluir este trabajo poniendo de manifiesto las limitaciones que tiene la extrapolación a humanos. Haciendo un estudio comparativo en hígado humano y de rata, nosotros hemos comprobado recientemente que existen diferencias importantes entre ambas especies en las actividades de las principales enzimas implicadas en el metabolismo del etanol (4, 8). Estas diferencias se observan tanto en los valores absolutos de actividades ADH y ALDH como en sus respectivas constantes cinéticas y respuestas a inhibidores (4, 8).

A pesar de esas diferencias inter-especies, y precisamente teniéndolas en cuenta, podemos terminar enumerando muy escuetamente las principales conclusiones de nuestro estudio:

1. La administración de etanol en la bebida a la rata preñada es un modelo experimental válido del FAS, aunque la extrapolación de los resultados a humanos requiere el tener en cuenta las diferencias entre ambas especies de las características cinéticas de las enzimas implicadas en el metabolismo del etanol.

2. El etanol que llega al feto no es metabolizado por falta de actividad ADH y ALDH en su hígado. A su vez, el acetaldehído formado en la madre tras la ingestión de alcohol no llega al feto, ya que su concentración en la sangre materna es siempre muy baja, y además la placenta tiene capacidad para degradarlo.

3. La malnutrición que tiene lugar en la madre que ingiere alcohol contribuye activamente en sus efectos negativos sobre el feto.

4. Determinadas alteraciones presentes al nacer en las crías de madres alcohólicas se recuperan tras una adecuada alimentación. El tiempo de esa recuperación depende del parámetro de que se trate y de las condiciones nutritivas y ambientales, pero existen algunos que se mantienen permanentemente afectados.

Agradecimientos

El presente estudio ha sido realizado con una ayuda de la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica, Ministerio de Educación y Ciencia. Las determinaciones de actividades enzimáticas y niveles circulantes de etanol se han realizado con la ayuda técnica de Milagros Morante.

BIBLIOGRAFIA

1. Jones, K. L., and Smith, D. W.: *Lancet*. 2, 999-1001, 1973.
2. Council Report on «Fetal Effects of Maternal Alcohol Use». Council of Scientific Affairs, American Medical Association, *JAMA*. 249, 2517-2521, 1983.
3. Herrera, E., and Llobera, M.: «Organ-Directed Toxicity, Chemical Indices and Mechanisms». Brown, S. S., and Davies, D. S., eds. Pergamon Press, Oxford y Nueva York, p.p. 11-23, 1981.

4. Herrera, E., y Zorzano, Z.: *Rev. Esp. Pediatr.* 39, 301-310, 1983.
5. Mena, M. A., and Herrera, E.: *J. Neurol Transm.* 47, 227-236, 1980.
6. Mena, M. A.; Salinas, M.; Martín del Río, R., and Herrera, E.: *Gen. Pharmacol.* 13, 241-248, 1982.
7. Ludeña, M. C.; Mena, M. A.; Salinas, M., and Herrera, E.: *Gen. Pharmacol.* 14, 327-332, 1983.
8. Herrera, E.; Zorzano, A., and Fresneda, V.: *Biochem. Soc. Trans.* 11, 729-730, 1983.
9. Mena, M. A.; Martín del Río, R., and Herrera, E.: *Gen. Pharmacol.* 15, 151-154, 1984.
10. Dawson, A. G.: *TIBS*, June, 195-197, 1983.
11. Moser, K.; Papenberg, J., and Von Wartburg, J. P.: *Enzymol. Biol. N.* 9, 447-458, 1968.
12. Raskin, N. H., and Sokoloff, L.: *J. Neurochem.* 19, 273-282, 1972.
13. Sjoblom, M., and Morland, J.: *Biochem. Pharmacol.* 28, 3417-3423, 1979.
14. Chance, B.; Greenstein, D. S., and Roughton, F. J. W.: *Arch. Biochem. Biophys.* 37, 3181-3182, 1974.
15. Lieber, C. S., and DeCarli, L. M.: *J. Biol. Chem.* 245, 2505-2512, 1970.
16. Deitrich, R. A.: *Biochem. Pharmacol.* 15, 1911-1922, 1966.
17. Duritz, G., and Truitt, E. B.: *Biochem. Pharmac.* 15, 711-721, 1966.
18. Nicloux, M.: *Cr. R. Soc. Biol.* 51, 980-982, 1899.
19. Biossonnette, J. M.: *Placenta*, 2, 155-162, 1981.
20. Kouri, M.; Koivula, T., and Koivusalo, M.: *Acta Pharmacol. et Toxicol.* 40, 460-464, 1977.
21. Pikkarainen, P. H., and Raiha, N. C. R.: *Pediat. Red.* 1, 165-168, 1967.
22. Lucchi, L.; Covelli, V.; Spano, P. F., and Trabocchi, M.: *Neurobehav. Toxicol. Terat.* 6, 19-21, 1984.
23. Palacin, M.; Lasunción, M. A., y Herrera, E.: *Rev. Esp. Pediatr.* 40, 163-198, 1984.
24. Villarroya, F.; Mampel, T., and Herrera, E.: *Gen. Pharmacol.* En prensa.