



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

***IMPACTO DE DIFERENTES AMBIENTES SOBRE
LA MEMORIA DE TRABAJO Y LA MEMORIA DE
REFERENCIA EN EL SÍNDROME DE VALPROATO
FETAL EN RATA.***

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN PSICOLOGÍA

P R E S E N T A:

BRENDA ALEJANDRA TEJADA COLÍN

DIRECTOR

DR. FRUCTUOSO AYALA GUERRERO

REVISORA

DRA. MARÍA GUADALUPE FLORES CRUZ



CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX.

OCTUBRE 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedicatoria

Esta tesis va dedicada a las personas que más quiero y que me brindan todos los días de mi vida su apoyo, amor, comprensión y tantas cosas que me hacen crecer más y más.

Gracias por apoyarme a lograr esta primera meta y por aguantar tanto conmigo.

Mamá: Gloria Hipólita Colín Colín.

Papá: Pedro Tejada Sánchez.

Hermanos: Pedro Antonio y Gloria Angélica.

Muchas gracias a mis amigos por todo su apoyo y motivación que me brindaron en este camino y por cada momento que me ofrecieron para compartirles este proyecto.

Daniel Ruiz, María Fernanda, Juan Antonio y Adriana.

Gracias a todos los que integraron el equipo de laboratorio de Neurociencias, con quienes compartí cada día experiencias que nos hicieron más fuertes, con cariño para ustedes.

A él, por haber sido una de las personas que más me motivó durante todo este proceso. Por ser esa persona especial que me brindó su apoyo, haciéndome ver de una manera distinta mis metas y mi capacidad. Gracias, **Diego.**

Muy agradecida con la Universidad Nacional Autónoma de México y con la Facultad de psicología por llenarme de herramientas necesarias y de sed por aprender cada día más.

AGRADECIMIENTOS

DRA. MARÍA GUADALUPE: GRACIAS POR LA CONFIANZA Y POR TODAS LAS CORRECCIONES QUE ME PERMITIERON APRENDER DÍA A DÍA NO SÓLO DE LO ACADÉMICO SINO DE TODO LO QUE ES IMPORTANTE EN EL EJERCICIO PROFESIONAL. GRACIAS.

DR. ERIK L. SALGADO: POR TODA LA ORIENTACIÓN BRINDADA PARA QUE ESTE TRABAJO, SUS ENSEÑANZAS, Y DISPONIBILIDAD. POR AYUDARME FRENTE A CADA DUDA QUE SURGÍA. GRACIAS.

DR. FRUCTUOSO AYALA: POR PERMITIRME HACER USO DEL EQUIPO PARA LLEVAR A CABO ESTE PROYECTO, ASÍ COMO LA CONFIANZA DE FORMAR PARTE DE SU LABORATORIO.

DRA. GRACIELA MEXICANO: POR SUS ENSEÑANZAS Y COLABORACIÓN EN LA REALIZACIÓN DEL TRABAJO.

SINODALES, LIC. KATIA RODRÍGUEZ, DR. HUGO SÁNCHEZ Y DR. ÓSCAR GALICIA, POR SUS OBSERVACIONES Y TIEMPO PARA LA MEJORA DEL PRESENTE TRABAJO.

Índice

Resumen	1
2. Introducción.....	2
3. Antecedentes	3
3.1 Desarrollo del Sistema Nervioso	3
Proliferación- Diferenciación	5
Migración	5
Crecimiento axónico	6
Sinaptogénesis	6
Eliminación sináptica	6
3.2 Periodos críticos durante el desarrollo del sistema nervioso	9
3.3. Empleo de fármacos durante el embarazo: el caso de los fármacos antiepilépticos .	11
3.4 Síndrome de valproato fetal	17
3.5 Modelos animales para el estudio del síndrome de valproato fetal	22
3.6 Enriquecimiento ambiental como estrategia de rescate	26
3.7 Memoria.....	32
3.8 Estudio de memoria de trabajo y de referencia en ratas	34
Justificación.....	38
4. Planteamiento del problema	39
5. Objetivos	40
6. Método.....	40
6.1 Sujetos.....	40
6.2 Materiales	40
6.3 Aparatos	41
7. Procedimiento.....	41

7.1 Primera etapa: Exposición al laberinto	43
7.2 Segunda etapa: Entrenamiento en el laberinto.	44
7.3 Tercera etapa: Evaluación.	44
8. Análisis de resultados	45
9. Resultados	46
9.1 Parámetros postnatales	46
9.2 Etapa de Entrenamiento en el laberinto radial.....	46
9.3 Etapa de Evaluación	49
10. Discusión.....	54
10.1 parámetros postnatales.....	55
10.2 Habilidad cognitiva: Aprendizaje	55
10.3 Habilidades cognitivas: Memoria de trabajo y Memoria de referencia	56
10.4 Condiciones ambientales	58
10.5 Componentes conductuales.....	62
11. Conclusiones	63
12. Limitaciones.....	63
12. Referencias	65

Índice de abreviaturas

VPA	Ácido Valproico
FAE	Fármacos antiepilépticos
SNC	Sistema Nervioso Central
TN	Tubo Neural
VPN	Vida Post-natal
Sx	Síndrome
CO	Monóxido de carbono
OMS	Organización Mundial de la Salud
PPE	Programa Prioritario de Epilepsia
TDFCo	Trastornos del Desarrollo que afectan la Función Cognitiva
TDFC	Trastornos del Desarrollo que afectan la Función Conductual
MCM	Malformación Congénita Mayor
COMRA	Comisión de medicamentos
FDA	Food and Drug Administration
WISC III	Escala Wechsler de inteligencia para niños
GD	Día Gestacional
AE	Ambiente enriquecido
ECV	Evento Cerebro Vascular
NaCl	Cloruro de sodio
ACC	Ambiente Control-Control
EC	Enriquecido Control
ACAVP	Ambiente Control Ácido Valproico
EAVP	Enriquecido Ácido Valproico
NMDA	N-metil-D-Aspartato
LTP	Potenciación a Largo Plazo
LTD	Depresión a Largo Plazo
SS	Solución Salina

Índice de tablas

Tabla 1. <i>Formación del tubo neural</i>	4
Tabla 2. <i>Desarrollo morfogenético del SNC</i>	8
Tabla 3. <i>Efectos de los fármacos antiepilépticos</i>	12
Tabla 4. <i>Clasificación de medicamentos</i>	18
Tabla 5. <i>Desarrollo y crecimiento</i>	22
Tabla 6. <i>Efectos del enriquecimiento ambiental sobre los trastornos del SNC en modelos animales</i>	32
Tabla 7. <i>Media de índice de respuestas correctas</i>	54

Índice de figuras

Figura 1: <i>Periodos críticos del desarrollo</i>	9
Figura 2. <i>Comparación de eventos principales</i>	23
Figura 3. <i>Procedimiento</i>	45
Figura 4. <i>Duración de la gestación</i>	49
Figura 5. <i>Número de sesiones</i>	51
Figura 6. <i>Tiempos de ejecución</i>	53

Figura 7. *Índice de memoria de trabajo*.....55

Figura 8. *Índice de memoria de referencia*.....56

Resumen

El ácido valproico (AVP) o ácido 2-propilpentanoico es un fármaco que cuenta con propiedades anticonvulsivantes, por lo que se ha empleado como tratamiento para la epilepsia primordialmente. Desde hace 40 años se conoce que su uso durante la gestación puede generar alteraciones del nacimiento, caracterizados por malformaciones congénitas, retraso en el desarrollo y función cognitiva reducida, a este conjunto de alteraciones varios autores lo han denominado Síndrome de Valproato Fetal. En niños con este síndrome se ha observado en estudios a largo plazo, limitaciones en el adecuado desempeño en su vida diaria debido a las alteraciones que presentan; ante este panorama se han buscado alternativas terapéuticas para atenuar las alteraciones, como son la estimulación temprana y la terapia ocupacional. Se ha planteado que el enriquecimiento ambiental durante los primeros años de vida podría ayudar a la mejora del comportamiento e incluso de la cognición, aunque esto no se ha comprobado en el síndrome de valproato fetal. Gracias al estudio de este síndrome a través de modelos animales se ha obtenido información que de otra forma no podría lograrse en el estudio con humanos. Los niveles afectados a causa del VPA, descritos a través de estos modelos van desde molecular, sináptico, red neural hasta el comportamiento, dejando a los procesos cognitivos como son, aprendizaje y memoria, parcialmente explorados. Por tal razón el presente estudio buscó evaluar la influencia del VPA administrado prenatalmente, sobre los procesos de aprendizaje, memoria de trabajo y memoria de referencia en ratas de la cepa Wistar, así como la exposición a diferentes ambientes con el fin de ver el impacto de estos sobre los procesos cognitivos. Para lo cual se realizaron tres bloques experimentales. En el bloque 1 se administra a ratas hembras en el día 10 de gestación una dosis de 600 mg/kg de AVP o un volumen equivalente de solución salina. En el bloque 2 se selecciona en el día 21 PN machos para la entrada a los diferentes ambientes (enriquecidos social y estándar individual), en los cuales permanecieron durante todo el experimento. En el bloque 3 se utilizó un laberinto radial de 9 brazos para la evaluación de las diferentes habilidades cognoscitivas (día PN 60). Los resultados indican en el grupo EC altos índices de ejecución en memoria de trabajo y memoria de referencia, con errores mínimos durante la tarea. El promedio del número de sesiones necesarias para la adquisición de la tarea es la más baja de los 4 grupos. El grupo ACC se observó mayor número de errores para los procesos de memoria, así como mayor número de sesiones para el aprendizaje de la tarea. Con respecto a los grupos con administración prenatal de AVP, se observaron modificaciones en sus procesos cognoscitivos en comparación con el grupo EC. El grupo mayormente afectado fue ACAVP, ya que éste, la mayoría de los sujetos que lo conformaban no logró el aprendizaje de la tarea y se destaca índices muy bajos debido a los constantes errores que presentaban. No se observa lo mismo para el grupo EAVP, ya que este grupo aunque se administra el agente AVP, logra ejecuciones similares al grupo ACC pero sin alcanzar al grupo EC. Por lo que se concluye que el uso de AVP durante la etapa prenatal, es un agente que posiblemente esté alterando estructuras cerebrales, como hipocampo y corteza, involucrados en los procesos de aprendizaje y memoria (trabajo y referencia). Mientras que los AE parecen ser una alternativa que permite al organismo responder de mejor forma a las demandas del medio, posiblemente a través de mecanismos de plasticidad cerebral que pudieran estar reorganizando al SN.

Palabras clave: ácido valproico, ambiente enriquecido, memoria de trabajo, memoria de referencia, síndrome de valproato fetal

2. Introducción

La gestación es una etapa especial y única de la vida de dos seres vivos, madre y producto, que conlleva importantes implicaciones médicas en general (modificaciones en el sistema cardiovascular, aparato urinario, tracto gastrointestinal, sistema respiratorio, entre otros). Los eventos que se produzcan durante la gestación pueden afectar el ambiente uterino como al producto, y a su vez, este verse afectado a largo plazo. Aunque muchas de las alteraciones congénitas siguen siendo de origen desconocido, existen otras en las que se ha determinado el agente causante. Los fármacos durante el embarazo son uno de los agentes que se han asociado con la ocurrencia de alteraciones congénitas, estos empleados para el control de padecimientos específicos.

Uno de los grupos de fármacos, cuyo consumo diario es importante para el control de los síntomas, son los antiepilépticos. De manera general se ha demostrado que los fármacos antiepilépticos (FAE) y su exposición en útero se correlacionan con defectos de nacimiento, déficits cognitivos y conductuales. Gracias a los estudios que comparan los efectos teratogénicos de diferentes FAE se conoce que el ácido valproico (un tipo de antiepiléptico) genera toda una gama de alteraciones, tales como: modificación en la estructura cerebral, defectos morfológicos y anormalidades del comportamiento, volviéndolo un medicamento con alto riesgo teratogénico. Con respecto a los procesos cognitivos se reporta que el lenguaje, el aprendizaje y la memoria se encuentran afectados negativamente.

Se denomina síndrome de valproato fetal al conjunto de alteraciones generadas por la exposición prenatal al AVP. Los niños diagnosticados con este síndrome manifiestan discapacidad física y cognitiva significativa, lo cual llega a limitarlos en la realización de actividades de la vida cotidiana; de hecho algunas investigaciones enmarcan que a largo plazo estos niños requieren de educación especial. Las alternativas terapéuticas que se emplean van dirigidas a aminorar algunos de los síntomas presentes dejando de lado algunos otros como son las alteraciones cognitivas y conductuales, las cuales necesitan estrategias de intervención a través de un diseño específico. Por lo anterior

los enfoques experimentales a través de modelos animales, son de gran relevancia ya que abren la posibilidad de ampliar el conocimiento sobre el síndrome de valproato fetal.

Los hallazgos reportados en modelos animales señalan malformaciones de múltiples órganos (ratones, ratas y jerbos), defectos del tubo neural, y déficits de comportamiento en ratones y ratas. Mientras que el estudio de los efectos en la actividad cognitiva ha sido parcialmente explorado. Las investigaciones que se han llevado a cabo mencionan alteraciones en procesos de aprendizaje y memoria espacial. Por otro lado, en relación a las intervenciones se ha investigado el impacto de ambientes enriquecidos sobre alteraciones en la conducta, en donde se ha reportado que este tipo de intervención modifica los problemas conductuales reportados en el modelo. La información existente con respecto al síndrome de valproato fetal, a diferencia de otras entidades médicas, aún es reducida. Por lo que el estudio especificado de los procesos cognitivos (por ejemplo, el estudio de memoria en sus diferentes variantes), así como el uso de ambientes enriquecidos para mejorar las habilidades cognitivas, permitirá un mayor conocimiento de esta condición.

3. Antecedentes

3.1 Desarrollo del Sistema Nervioso

Cuatro semanas después de iniciada la gestación, incluso antes de que una madre sepa que está embarazada, el cerebro del feto comienza a desarrollarse. La formación del sistema nervioso humano inicia aproximadamente 18 días después de la fertilización; éste deriva de una porción engrosada dorsal medial del ectodermo denominada placa neural (Segovia & Guillamón, 1985; Rosselli, Matute & Ardila, 2010).

El tejido neuroectodérmico presenta diversas modificaciones a lo largo de la vida intrauterina para alcanzar la configuración del sistema nervioso adulto. En un principio la placa neural crece dando lugar al canal neural. Posteriormente, se forman cadenas de células en ambos lados de la posición medial de la placa neural, después sus extremos comienzan a doblarse para unirse. Estos extremos generados se denominan

pliegues neurales, entre estos se genera un surco, el surco neural. Al irse aproximando los pliegues neurales, medida que este se va invaginando, se fusionan en la línea media dando lugar a la formación del tubo neural (TN) (Rodríguez, Domínguez, Cantín & Rojas, 2015). El cierre del TN principia en la región intermedia del embrión y avanza hacia los extremos craneal y caudal; de esta forma, el tubo neural se encuentra temporalmente abierto en ambos extremos y en comunicación con la cavidad amniótica. Una vez que se cierra se da por finalizado el proceso denominado neurulación primaria. (Cavada, 1985, Rodríguez, Domínguez, Cantín & Rojas, 2015). La apertura más rostral, llamado neuroporo craneal, se cerrará el día 25, mientras que la caudal lo hará dos días más tarde. Así se completa la separación entre el tubo y el resto del ectodermo que formará la superficie del embrión (Ver Tabla 1). El TN se divide en dos porciones, la caudal dará origen a la médula espinal, y la craneal se convertirá en el encéfalo; en la porción craneal pueden observarse a partir de la 4ta semana de gestación 3 vesículas, que a su vez mostraran cambios morfológicos para dar pie a las estructuras cerebrales (Roselli, Matute & Ardila, 2010).

Proceso	Periodo (tiempo)	Descripción
Gastrulación	Inicio de la tercera semana de gestación	Establecimiento de las tres capas germinales: el ectodermo, mesodermo y endodermo.
Neurulación	Días 17 y 18 de gestación	Se presentan tres estadios, placa, canal y pliegues.
	Día 21 de gestación	Fusión de los pliegues neurales formando un tubo hueco y abierto en los extremos caudal y cefálico (llamados neuroporos). Dando pie a la formación del tubo neural.
	Día 25 de gestación	La apertura más rostral, llamado neuroporo craneal se cierra.
	Día 27 de gestación	Cierre de la apertura caudal, completando el proceso de neurulación

Tabla 1. *Formación del tubo neural.* Resumen de los eventos para la conformación del TN a través del tiempo. (Segovia, & Guillamón, 1985)

Desde su formación, el tubo neural presenta constantes procesos de cambio que se realizan dentro de una secuencia espacial y temporal precisa. El tubo nervioso en sus

primeros estadios es un epitelio grueso pseudoestratificado, denominado neuroepitelio. Éste está formado por una sola capa de células las cuales son aparentemente idénticas en cuanto a su morfología y comportamiento (Segovia, & Guillamón, 1985). De las células neuroepiteliales se derivarán todas las neuronas y las células macrogliales del sistema nervioso, a partir de diferentes fases, las cuales se describen a continuación.

Proliferación- Diferenciación

Una vez finalizado el proceso de neurulación, el sistema nervioso entra en una fase de proliferación en la que existe un aumento de células. A partir de las células madre o células precursoras del ectodermo, se genera rápidamente un gran número de neuroblastos y células gliales (Poch, 2001). En la división repetida de las células precursoras se genera diferentes poblaciones que se disponen a ocupar un lugar definido. A medida que se multiplican las células neuroepiteliales, y a partir de la expresión diferencial del material genético moduladas por señales inductores, interacciones o sumatorias de influencias químicas locales, factores tróficos, interacciones gliales, entre otros, dan lugar a la diferencia de poblaciones neuronales. Posteriormente estas neuronas tomarán destinos separados (López, 1990; Zuluaga, 2002).

Migración

Millones de células emigran a su lugar asignado a través de dos tipos de migración; radial y tangencial, procesos que se encuentran controlados genéticamente. Las primeras neuronas ocupan los estratos más bajos y las siguientes van colocándose progresivamente por encima de las precedentes. Algunas neuronas recorren un camino extenso, a través de los brazos de células gliales, las cuales sirven como guías (Poch, 2001). Específicamente la glía radial, funciona como soporte, permitiendo la migración de las neuronas hacia la periferia, de tal forma que las poblaciones neuronales se

disponen a ocupar un lugar definido en la corteza cerebral y/o en otras estructuras estratificadas en desarrollo (López, 1990; Zuluaga, 2002).

Crecimiento axónico

Una vez que las neuronas han logrado ocupar su lugar en el SN en formación, estarán preparadas para el desarrollo de conexiones sinápticas con neuronas que hayan alcanzado similar estado de diferenciación. En este punto, las células neuronales apenas constan de un pericarión con pequeñas prolongaciones, de las cuales se configuran conos de crecimiento. Es a partir de los conos de crecimiento (extremo de un axón en extensión) donde se reciben las señales del ambiente implicadas en el avance, retroceso o cambio de dirección del axón. Por lo que es la estructura encargada de guiar la extensión del axón en una determinada dirección. Una vez que llegan a su sitio blanco, cesan su proyección y se forman las arborizaciones y contactos sinápticos que pueden ser posteriormente refinados y modulados por procesos de plasticidad neuronal (Morgane et al, 1993; Tamariz, 2012).

Sinaptogénesis

La formación de las sinapsis está basada en las afinidades diferenciales de los elementos presinápticos y postsinápticos (moléculas de adhesión como efrinas y cadherinas) que contribuyen a la identificación y estabilización de las sinapsis sobre las células diana. Factores como la interacción entre axones y células diana, síntesis y localización específica de los componentes estructurales de las sinapsis e Inicio de la señalización para la supervivencia y diferenciación resultan elementos importantes para la formación de sinapsis (Tamariz, 2012)

Eliminación sináptica

En el periodo de proliferación y organización hay un aumento marcado de neuroblastos, el 40% de ellos desaparecen, esta muerte celular está genéticamente programada. Durante el desarrollo cerebral existe una fase de superproducción de

sinapsis, redundantes, seguida de una fase regresiva de eliminación sináptica (Poch, 2001). Una vez que los contactos sinápticos se han establecido, las neuronas se vuelven dependientes de sus dianas para la supervivencia y diferenciación. Los tejidos diana sintetizan factores tróficos apropiados y lo hacen disponibles para las neuronas en desarrollo, dichas neuronas depende de la disponibilidad de estos factores para su supervivencia y la persistencia del número adecuado de sus conexiones sinápticas (Tamariz, 2012).

Los procesos de organización cerebral que ocurren a lo largo del desarrollo embrionario, se encuentran demarcados por periodos de máxima vulnerabilidad. El cerebro en desarrollo es muy maleable y este es refinado por los programas genéticos y la actividad del ambiente (Katz & Shatz, 1996). Por lo que pueden existir múltiples condiciones genéticas y/o ambientales que pueden dar origen a una diversidad de alteraciones en el desarrollo del SNC (ver tabla 2).

Proceso	Tiempo	Alteraciones	Causas
Proliferación-Diferenciación	4-20 S.	Microcefalias, megalencefalias y heterotopías nodulares periventriculares	<p>Genética: Síndromes cromosómicos, mutación genética aislada (autosómica recesiva, dominante, ligada a X).</p> <p>Ambientales: Alcohol, rayos X, fenilalanina.</p> <p>Infeciosas: Rubéola.</p>
Migración	8-24 S.	Lisencefalias, agirias, paquigirias, microgirias, esquizencefalia, heterotípías, disgenesia del cuerpo calloso, displasias corticales.	<p>Genética: Síndrome cromosómico, microdelecciones cromosómicas, mutación génica (Sx. Miller Dieker, Sx. Walter Warburg, Lisencefalia ligada a X).</p> <p>Infeciosas: Citomegalovirus.</p>
Sinaptogénesis y muerte neuronal	20 S.- VPN	Displasias corticales menores (microdisgenesias), anormalidades sinápticas, polimicrogirias, disgenesia del cuerpo calloso.	<p>Genéticas: Síndrome cromosómico (Sx. Down, Sx. X frágil), mutación genética aislada.</p> <p>Infeciosas: Citomegalovirus, rubéola.</p> <p>Teratógenos: CO</p>

Tabla 2. *Desarrollo morfogenético del SNC.* Descripción de los procesos morfogenéticos en sus respectivas etapas temporales, sus alteraciones y causas. S.= Semanas; VPN= Vida posnatal; Sx= Síndrome; CO= Monóxido de carbono (Zuluaga, 2002)

3.2 Periodos críticos durante el desarrollo del sistema nervioso

La adecuada formación de los órganos (en los que se incluye al SNC), depende de la experiencia que ocurra durante determinadas ventanas temporales, a esto Meredith (2015) le ha llamado periodos sensibles. Se entiende como un periodo sensible a las ventanas temporales durante las cuales la exposición del organismo a factores externos, internos o bien experiencias, modulan la aparición de características y comportamientos específicos. Existe una elevada susceptibilidad a la influencia de agentes tanto exógenos como endógenos, los cuales pueden dar origen a alteraciones, malformaciones e incluso la ausencia de cierto órgano. En relación al SNC se puede observar un retraso en la maduración celular, en el establecimiento de los circuitos neuronales hasta la alteración de ciertas regiones cerebrales. Durante estos periodos el SNC y el resto del cuerpo son susceptibles a la acción modificadora de un gran número de agentes. Estos agentes que son tanto del medio interno, propio de la madre gestante, como del medio externo son denominados factores teratógenos (Segovia & Guillamón, 1985). En la Figura 1 se puede observar la formación de algunos órganos a través del tiempo y las etapas de máxima vulnerabilidad.

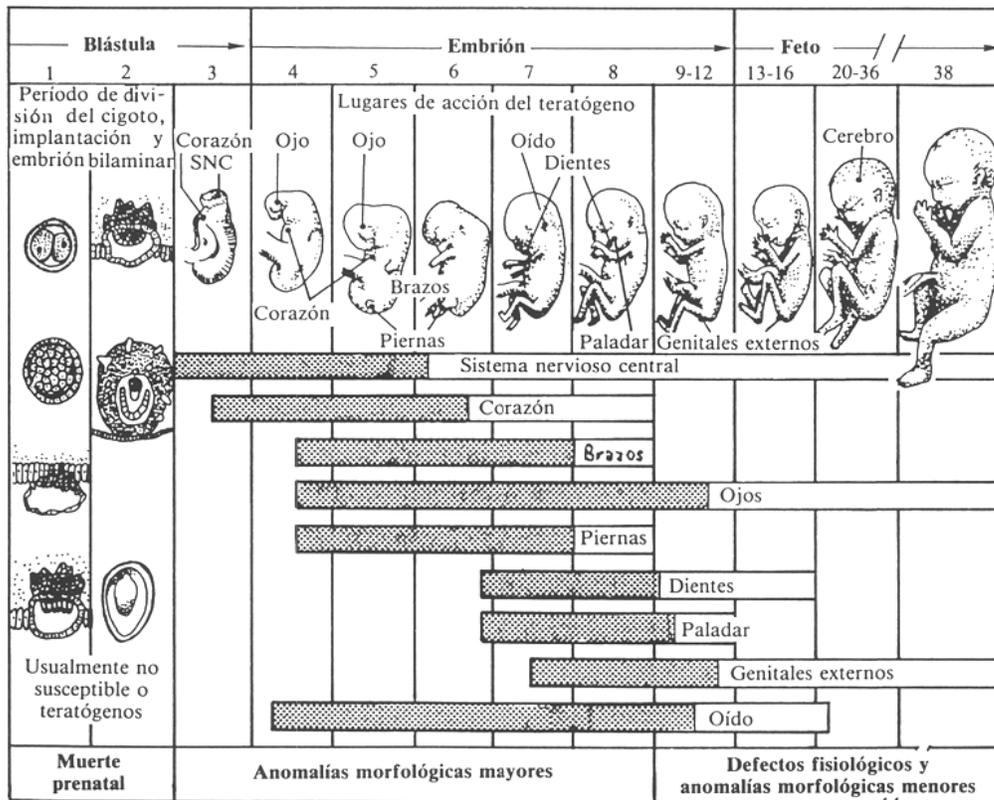


Figura 1: *Períodos críticos del desarrollo*. Representación de las ventanas del tiempo (en semanas) en las cuales se desarrolla cada órgano. La zona punteada indica mayor sensibilidad para la ocurrencia de alguna anomalía. (Moore, 2005).

Como factores externos o ambientales que pueden generar alguna alteración y a los que está expuesta la madre gestante, se encuentran: El estrés prenatal, la mala alimentación, la exposición a radiación, la talidomida, el alcohol, la cocaína, el mercurio, la rubéola, el citomegalovirus, la varicela, la diabetes, entre otros (Frías & Gilbert, 2008). Cada uno de estos puede generar alteraciones específicas, dependiendo de la intensidad y duración con la que se exponen al feto.

Se ha descrito que el 40% de las malformaciones es de origen desconocido; de un 12 a un 25% son defectos genéticos, siendo el síndrome de Down el más frecuente de este grupo; otro 20% son debidos a interacciones entre factores hereditarios y factores ambientales y finalmente de un 5 a un 9% de las malformaciones son atribuidas a

factores ambientales como un posible agente único (Lacroix, Damase-Michel, Lapeyre-Mestre & Montastruc, 2000; Olesen et al., 1999; Sánchez, 1995).

Las malformaciones congénitas debidas a factores estrictamente ambientales son del 0.1 al 0.2% de todos los nacidos vivos y solamente una pequeña parte de éstos son debidos a fármacos que actúan como teratógenos. Aunque este porcentaje de relación causal entre toma de fármacos y malformación es relativamente bajo, no por ello deja de ser importante ya que se trata de una causa evitable en un alto porcentaje de los casos (Sánchez & Gil, 2011). Las manifestaciones que se observan por la administración prenatal de diversos fármacos van desde físicas hasta alteraciones conductuales (Leonard, 1981; Lacroix et al., 2000). Los fármacos pueden dañar al feto en cualquier periodo del embarazo, aunque el periodo de mayor riesgo es el primer trimestre ya que durante este periodo (días 20-55) tiene lugar la formación de la mayoría de los órganos (Figura 1).

3.3. Empleo de fármacos durante el embarazo: el caso de los fármacos antiepilépticos

Un tratamiento farmacológico se prescribe con la finalidad de mejorar o suprimir el daño y la enfermedad. Implica el uso de sustancias químicas para evitar la aparición de un proceso fisiológico no deseado; sin embargo, el empleo de ciertos fármacos de manera prolongada puede generar alteraciones de diversos tipos (Flórez, 2014)

Existen varios fármacos que su consumo diario se vuelve muy importante para el control de los síntomas, un ejemplo de ello serían los fármacos antiepilépticos (FAE). Clínicamente se han utilizado como tratamiento para epilepsia, y en menor medida se emplean como moduladores del estado de ánimo, como sería depresión y trastorno afectivo bipolar (Terbach & Williams, 2009). Específicamente en la epilepsia, se sabe que una personas que ha sido diagnosticada con esta condición, requiere de una consistencia de tratamiento, esto tanto para hombres como para mujeres.

Un estudio sobre la prevalencia de este padecimiento realizado por la OMS, calculó una prevalencia mundial de 2.7 a 41.3 por cada 1000 personas, siendo mayor en

países en desarrollo. En México, se ha descrito una prevalencia de 11.4 a 20.3 en 1000 personas. Traducidas estas cifras a la población, se puede calcular que existen cerca de 10 a 20 millones de personas con epilepsia en nuestro país. (Rubio et al., 2007; Gutiérrez & García, 2009). Con respecto a las cifras correspondientes a madres epilépticas se estima 1 de cada 200, es decir un 0.5% (Lorenzato et al., 2002), las cuales continúan con su tratamiento durante el embarazo. La frecuencia de las crisis o la gravedad del trastorno subyacente son los principales motivos por lo que no se suspende la administración de FAE; por otra parte, la suspensión de FAE en mujeres en edad fértil no resulta ser una opción razonable o segura para muchas pacientes con epilepsia (Barrett & Richens, 2003). Por lo anterior muchas investigaciones han tenido como fin el estudio de la administración de FAE durante la gestación.

Actualmente en uso clínico se encuentran más de 20 FAE, de los cuales sólo se utilizan con elevada frecuencia el fenobarbital, la fenitoína, la carbamazepina, y el valproato (McVearry, Gaillard, VanMeter & Meador, 2009), cada uno con riesgo latente por su consumo durante la gestación. La exposición a los FAE durante el primer trimestre del embarazo se ha asociado con una serie de alteraciones cognitivas (Roullet, Lai, & Foster, 2013) así como reducción del peso cerebral (Meador, Baker, Cohen, Gaily & Westerveld, 2007), defectos del tubo neural, alteraciones congénitas del corazón, labio leporino, anomalías digitales, retraso del crecimiento, retraso en el desarrollo y microcefalia (Buehler et al., 1990; Holmes et al., 2001; Meador, Baker & Finnelli, 2006).

En un estudio que llevó a cabo Vajda et al., (2004), realizaron un registro de mujeres Australianas con epilepsia el objetivo era evaluar prospectivamente los riesgos comparativos de teratogenicidad de varios FAE, analizando tres grupos, dos de ellos servían de control: el primero lo formaban aquellas mujeres que tomaban fármacos antiepilépticos para indicaciones no epilépticas (por ejemplo en el trastorno bipolar), el segundo grupo eran personas con epilepsia que no toman ninguna FAE, mientras que el tercer grupo se formaba por mujeres con epilepsia que tomaban algún FAE; Los autores reportan una relación positiva entre la incidencia de malformaciones y dosis altas de un FAE (AVP). Al comparar los grupos los resultados obtenidos indicaron que

para el grupo de embarazadas con epilepsia expuestas a cualquier FAE presentaron mayor cantidad de malformaciones que los otros dos grupos control.

Este estudio permite evidenciar que existe una tasa de malformación relacionada con la epilepsia de la madre, sin embargo ésta se aumenta cuando existe el consumo de algún FAE. Aunque algunos estudios, como el descrito previamente, han planteado que la propia epilepsia materna está enlistada como una posible causa de las anomalías fetales (Laine-Cessac et al., 1995; Crawford, 1997; citados por Vanya et al., 2015), existe evidencia que demuestran que la terapia con FAE es la principal causa de malformaciones (Perucca & Tomson, 2006).

Se ha descrito los efectos teratogénicos relacionados con el uso de la fenitoína, carbamazepina, valproato y fenobarbital, en diversos estudios, algunos de los cuales serán descritos a continuación en la tabla 3.

FAE	PRIMER TRIMESTRE	AUTORES
FENOBARBITAL	<p style="text-align: center;">SNC:</p> <p>Examinación histológica en cerebros de ratas expuestas a 0.06 mg/kg de fenobarbital durante las tres primeras semanas ha demostrado una reducción del 20 al 30% de células de Purkinje y granulares del cerebelo (1). Adicionalmente, a través de un estudio citológico en el cerebelo de ratas expuestas a este fármaco en los días 9 y 18 de gestación a una dosis de 3 g/kg, se ha observado signos de degeneración mitocondrial (inflamación) y degeneración de la vaina de mielina (2). Otro estudio que analiza los daños producidos por este fármaco con análisis tisular de cerebros de ratas expuestas prenatalmente a 3 g/kg de fenobarbital, demostró un aumento significativo en los valores de unión a receptores muscarínicos colinérgicos, así como aumento de fosfato de inositol, lo autores mencionan una alteración en los componentes post-sinápticos del sistema septohipocampal (3).</p> <p>TDFCo: Alteraciones en el aprendizaje espacial en ratas. En humanos no difieren el CI en niños de 4 años (medido a través de la escala de Weschler) expuestos prenatalmente a fenobarbital vs niños que no fueron expuestos.</p> <p>OM: Leves anomalías craneofaciales, fisuras faciales y principalmente alteraciones cardiovasculares</p>	<p>(Schain & Watanabe, 1975) (1); (Yanai, 1983) (2); (Pick, Cooperman, Trombka, Rogel-Fuchs, & Yanai, 1993) (3); Arpino <i>et al.</i>, 2000; Olafsson, Hallgrimsson, Hauser, Ludvigsson & Gudmundsson, 1998; Reinisch, Sanders, Mortensen & Rubin, 1995; Meador <i>et al.</i>, 2007.</p>

FENITOINA	<p style="text-align: center;">SNC:</p> <p>Se ha reportado el efecto de la administración prenatalmente (día 7 y 18 de gestación) a dosis de 200 mg/kg, genera alteraciones en las propiedades de anisotropía de las membranas, específicamente en el cerebelo, la corteza y el hipocampo. Lo anterior fue analizado en cerebro de ratas de 3 días de edad y 28 días, utilizando técnica de anisotropía fluorescente (fluorescencia polarizada) (1).</p> <p>TDFCo: Reducción en el cociente intelectual medido a través de las escalas Weschler, en niños de 7 años, sin embargo el deterioro no es tan grave para causar retraso mental (discapacidad intelectual).</p> <p>TDOT: Aumento en el riesgo de tumores neuroectodérmicos. TDFC: Trastornos del comportamiento. Hiperactividad observado en ratas y primates.</p> <p>OM: Defectos cardíacos, fisuras faciales, hipoplasia digital y anomalías de los genitales externos.</p>	<p>Vorhees, Rauch, & Hitzemann, 1990 (1); Ornoy, 2006; Artama, Auvinen, Raudaskoski, Isojärvi, & Isojärvi 2005; Adams, Vorhees, & Middaugh, 1990; Meador et al., 2007</p>
CARBAMAZEPINA	<p style="text-align: center;">SNC:</p> <p>Estudio que utiliza inmunohistoquímica para analizar la influencia de la carbamazepina en el cerebro de ratones recién nacidos y con 5 semanas de edad, demuestra una reducción del número de neuronas en la estructura hipocampal a un 50%, amígdala y la corteza cerebral a un 25 % en comparación con ratones control (1).</p> <p>TDFCo: Alteraciones en el aprendizaje, retraso en el desarrollo (retardo en la adquisición del lenguaje y trastornos de la comunicación).</p> <p>TDFC: Trastornos del comportamiento.</p> <p>OM: Alteraciones esqueléticas, cardiovasculares, espina bífida</p>	<p>Åberg, Holst, Neagu, Ögren, & Lavebratt, 2013 (1). Jones, Lacro, Johnson, Adams, 1989; citado por Meador et al., 2007; Ornoy, 2006; Forcelli, Kim, Kondratyev, & Gale, 2011</p>
AVP	<p style="text-align: center;">SNC:</p> <p>Estudio en ratas que recibieron dosis de 350 mg/kg de AVP, en el día 11 de gestación, se reporta en análisis de cortes de diferentes regiones cerebrales, pérdida de neuronas motoras y daño en los núcleos de los nervios craneales VI Y III. (1). En otra investigación se analiza el impacto de este fármaco a dosis 600 mg/kg en el día 12 de gestación. Utilizaron un técnica de tinción en cortes del cerebelo, a los 40 días postnatales, reportan un número menor de células de Purkinje</p>	<p>Moore <i>et al.</i>, 2000; Wyszynski et al., 2005; Rodier, Ingram, Tisdale,</p>

y reducción del volumen cerebeloso, siendo el cerebelo una de las estructuras alteradas por el AVP (2). Adicionalmente, en otro estudio, se ha reportado que a dosis de 800 mg/kg en los días 9 y 11 de gestación, se presenta hipoplasia cortical para ambos días y migración anormal de las células 5-HT debido a la aparición del tracto neuronal anormal en la protuberancia, lo anterior estudiado en los cerebros de ratas con 16 días de edad y utilizando inmunohistoquímica (3).

Nelson, & Romano, 1996 (1);Ingram, Peckham, Tisdale, & Rodier, 2000 (2);Kuwagata, Ogawa, Shioda, & Nagata 2009 (3).

TDFCo: Estudio en humanos demuestra dificultades en el aprendizaje y alteración en el proceso de memoria, cociente intelectual por debajo del promedio. Retraso en el desarrollo (en lenguaje expresivo y receptivo), y alteraciones en el desarrollo social como personal.

TDOT: Disfunción neurológica.

OM: Defectos del tubo neural, anomalías de las extremidades, corazón e hígado, así como alteraciones craneofaciales, (fisuras orales, blefaroptosis -párpado superior caído- y obstrucción del conducto nasolagrimal), hipospadias (desarrollo inusual del pene)

Tabla 3. *Efectos de los fármacos antiepilépticos.* Hallazgos reportados en diferentes estudios, relacionados con la exposición durante el primer trimestre del embarazo a diversos tipos de FAE. Se realiza la clasificación de las alteraciones en el SNC como Trastornos del Desarrollo que afectan la Función Cognitiva (TDFCo), Trastornos del Desarrollo que afectan la Función Conductual (TDFC), así como Otras malformaciones (OM) u otro tipo (TDOT).

Los estudios realizados a los niños expuestos in útero a alguno o varios de los diferentes FAE revelan un aumento en el riesgo de malformación congénita mayor (MCM). En resumen se suele asociar principalmente a los defectos del tubo neural, defectos anatómicos, así como alteraciones en el comportamiento y cognoscitivos, debido a la exposición al AVP y carbamazepina (Lindhout, Omtzigt & Cornel, 1992; Rosa, 1991) Mientras que los barbitúricos (fenobarbital y primidona) y fenitoína se han relacionado con defectos congénitos del corazón y fisuras faciales (Arpino et al., 2004) incluyendo anomalías urogenitales y esqueléticas.

Debido a los riesgos producto de la exposición a los FAE, se ha generado escenarios difíciles para los médicos al momento de tomar decisiones respecto a qué tratamiento pudiera ser más adecuado para las mujeres con epilepsia.

En los estudios en los que se realizan las comparaciones entre los FAE más utilizados, se reporta que existen diferencias en relación al grado de riesgo, que ofrece cada uno de estos fármacos. Tomson et al., (2011) utilizaron los datos del Registro internacional de fármacos antiepilépticos y embarazo, examinan las malformaciones congénitas debidas a la exposición a diferentes dosis de cuatro FAE comunes: carbamazepina, lamotrigina, AVP y fenobarbital, durante el primer trimestre de gestación. La valoración de la tasa de malformaciones se detectó hasta doce meses después del nacimiento. El análisis demostró que dosis altas para cualquiera de estos FAE se asoció con el aumento de la incidencia de malformaciones congénitas, sin embargo el riesgo de malformaciones fue significativamente mayor con cualquier dosis de AVP o tratamiento con fenobarbital. Específicamente el tratamiento con lamotrigina con una dosis diaria de 300 mg / día, su riesgo de malformaciones congénitas no era comparable a las que resultaban con dosis diaria de AVP.

En relación al riesgo de déficit cognitivo McVearry et al., (2009), realizaron una investigación longitudinal, sobre los efectos diferenciales de la monoterapia con fármacos antiepilépticos (carbamazepina, lamotrigina y AVP), dentro de su objetivo se encontraba el dejar de lado las medidas de CI proporcionadas por las escalas Weschler, para evaluar componentes de la cognición de orden superior, a través de la medición de la fluidez y originalidad cognitiva en una muestra de 54 niños, entendida como fluidez a la capacidad de crear ideas y originalidad a la calidad de dichas ideas, esto medido por la escala Torrance para el pensamiento creativo en acción y el movimiento (TCAM). Los autores reportan que la fluidez fue menor en el grupo de valproato versus los grupos de lamotrigina y la carbamazepina. La originalidad de igual forma fue menor en el grupo de valproato. Con estos resultados, los autores comentan que la exposición fetal a AVP se asocia con déficits cognitivos de orden superiores.

La evidencia descrita hasta el momento muestra un mayor riesgo de malformaciones congénitas, así como defectos cognitivos, relacionados a la administración prenatal de AVP en comparación con otros FAE (Adab et al., 2004; Adab, Jacoby, Smith & Chadwick, 2001; Artama et al., 2005; Marson et al., 2007; K. J. Meador et al., 2006; Morrow et al., 2006; Wyszynski et al., 2005). Colocándolo como

uno de los FAE que aumentan el grado de aparición de ciertas alteraciones congénitas.

3.4 Síndrome de valproato fetal

El AVP o ácido 2-propilpentanoico fue sintetizado en 1882 y utilizado como disolvente orgánico. Sus propiedades como antiepiléptico fueron descubiertas por primera vez al usarse como vehículo para fármacos antiepilépticos en modelos animales. Fue comercializado en Europa en los años 60 y en Estados Unidos a partir de 1978 (Salas-Puig, 2005).

Es uno de los FAE más utilizados en diferentes regiones del mundo, y se puede administrar ya sea como monoterapia o como parte de un esquema de politerapia. Los FAE comunes prescritos junto con AVP en politerapia incluyen carbamazepina, topiramato, fenitoína y lamotrigina (Hsieh & Huang, 2009). El AVP también se puede utilizar en el cuidado psiquiátrico para tratar la manía en pacientes bipolares, solo o en combinación con otros medicamentos antipsicóticos (Bialer, 2012; Terbach & Williams, 2009). Así mismo se ha utilizado como tratamiento o profilaxis para dolores de cabeza, como la migraña. A pesar de ser un FAE relativamente antiguo en el mercado, sigue siendo popular debido a sus beneficios terapéuticos probados, por ser un fármaco altamente tolerado, con buen control de las crisis, así mismo por su bajo precio, permitiendo la facilidad de acceso (Nanau & Neuman, 2013).

La comisión de medicamentos (CO.M.R.A) en el 2002 indicó que la administración para adultos es por vía oral (generalmente el AVP se presenta como un comprimido). La dosis inicial suele ser 15mg/kg y se incrementa a intervalos semanales de 5 a 10mg/kg día hasta una dosis diaria máxima de 60 mg/kg. (Laurence, Brunton & Parker, 2007). Es absorbido rápidamente por vía oral y su biodisponibilidad es cercana al 100%. Tras la administración oral se alcanza concentraciones plasmáticas máximas en una media de 90 minutos (Salas-Puig, 2005).

Desde el inicio de su comercialización, en 1970, sus efectos adversos no se conocían con exactitud, debido a que no eran obligatorios los estudios doble-ciego

frente a placebo. La amplia experiencia del uso de AVP demuestra que es un fármaco generalmente bien aceptado (es decir sin tantos efectos secundarios) (Salas-Puig, 2005), sin embargo, y como se ha venido exponiendo en párrafos anteriores, en relación al sector mujeres en edad reproductiva, el efecto primordial se observa en la progenie. Se han desarrollado múltiples clasificaciones para agrupar a los medicamentos en función al riesgo teratogénico. La más frecuente y útil es la que proporciona la FDA. Distingue cinco categorías que se mencionan a continuación en la tabla 4:

Clasificación	Descripción
A	Estudios controlados realizados con el fármaco que no han demostrado un riesgo para el feto durante el primer trimestre y no existe evidencia de riesgo en trimestres posteriores, por lo que la probabilidad de teratogénesis parece remota.
B	Se distinguen 2 supuestos: -Estudios en animales no han mostrado riesgo teratogénico aunque no se dispone de estudios controlados en embarazadas. -Estudios en animales han mostrado un efecto teratógeno no confirmado por estudios en embarazadas durante el primer trimestre de gestación y no existe evidencia de riesgo en trimestres posteriores.
C	Se asigna a aquellos fármacos para los que se considera que solamente han de administrarse si el beneficio esperado justifica el riesgo potencial para el feto. Hay 2 posibilidades: -Existen estudios en animales que revelan efectos teratógenos sobre el feto. -No existen estudios ni en animales ni en mujeres embarazadas.
D	Aquellos fármacos para los que hay una clara evidencia de riesgo teratogénico. Un ejemplo sería el de un medicamento que fuera necesario para tratar una enfermedad grave o una situación límite y no existan alternativas más seguras.
X	Los medicamentos pertenecientes a esta categoría están contraindicados en mujeres que están o pueden quedar embarazadas. Estudios realizados en animales o en humanos han mostrado la aparición de anomalías fetales y/o existen evidencias de riesgo teratogénico basado en la experiencia humana. El riesgo que supone la utilización de estos fármacos en embarazadas supera claramente el posible beneficio.

Tabla 4: *Clasificación de medicamentos.* Cinco categorías asignadas con letras que van de la A, B, C, D Y X. Se muestra una descripción breve de lo que engloba cada categoría. (Franciscus, 2015).

El 5 de mayo de 2013, la FDA informó a los profesionales de la salud, que el medicamento anticonvulsivo denominado AVP y productos relacionados, como divalproex sódico, están contraindicados para las mujeres embarazadas debido a que estos pueden causar disminución del cociente intelectual y otro tipo de alteraciones en los niños cuyas madres lo tomaron durante el embarazo. En ese momento la categoría de uso de valproato durante el embarazo cambió a "D" e incluso a "X" (Comunicado de la FDA sobre la seguridad de medicamentos, 2014).

Los primeros informes acerca de la teratogenicidad del AVP en los seres humanos fueron realizados por Robert y Guibaud por el año de 1982 (Onroy, 2006). Desde ese momento hasta la fecha las investigaciones continúan.

Describieron por primera vez en 1984 Diliberti, Farndon, Dennis & Curry un conjunto específico de rasgos dismórficos faciales relacionados con los efectos de AVP cuando éste se consume durante el desarrollo prenatal. Los principales hallazgos clínicos que se reportaron incluyen retraso del crecimiento intrauterino, orejas alargadas o bajas, frente inclinada, puente nasal ancho, hipertelorismo, epicanto, puente nasal deprimido, surco nasolabial disminuido, labio superior delgado y pequeña boca (Rouillet et al., 2013). A esta variedad de rasgos físicos se le ha llegado a denominar síndrome de valproato fetal (Diliberti, Farndon, Dennis & Curry, 1984; Clayton-Smith & Donnai, 1995). En muchos de los niños con este síndrome se han descrito adicionalmente otras anomalías congénitas como son retraso en el desarrollo y deterioro neurológico (Ardinger et al., 1988).

Kini, Adab, Vinten, Fryer & Clayton-Smith (2006) estudiaron a un total de 274 niños que fueron expuestos a fármacos antiepilépticos (63 a valproato, 94 a carbamazepina, 26 a la fenitoína, 15 a otras monoterapias y 76 a múltiples fármacos) Con el objetivo de encontrar especificidad en los rasgos dismórficos a causa de la exposición prenatal a algún FAE; los autores reportan malformaciones en el 14% de los niños expuestos al valproato en el útero. De esta forma los rasgos dismórficos constituyeron la primera pauta para identificar a los niños con síndrome de valproato fetal; sin embargo el diagnóstico del síndrome anticonvulsivante fetal se complicaba cuando se tomaba como única base los rasgos faciales. Posteriormente al continuar el estudio de estos

niños se comenzó a describir que éstos también podían presentar otras características como son la reducción en el cociente verbal (medido a través de escalas Weschler de inteligencia) y alteraciones en el comportamiento (Moore, Turnpenny, Quinn, Glover, Lloyd & Montgomery, 2000; Perucca & Tomson, 2006)

Las alteraciones que se han descrito en varias ocasiones en los hijos de madres tratadas con AVP son: Retraso en el desarrollo, incluyendo la reducción de la función cognitiva; trastornos por déficit de atención, problemas de aprendizaje y un cociente intelectual por debajo de la norma (medido por la prueba WISC-III) (Eriksson et al., 2005; Ornoy, 2009). Dentro de los estudios que se han llevado a cabo se encuentra el que realizan Koch, Jäger-romana, Lösche, Nau & Helge (1996) ellos estudiaron a 40 niños expuestos en útero a un único fármaco antiepiléptico: fenobarbital, fenitoína o AVP. Los niños expuestos al AVP fueron los más comprometidos en el nacimiento; al estudiar a estos mismos niños a los 6 años de edad, reportan los autores, hiperconectividad en redes cerebrales que involucraban las regiones frontal-medial, corteza somatosensorial y amígdala, por lo que sugieren que el ácido valproico puede no sólo causar malformaciones, sino también disfunción cerebral con secuelas a largo plazo. En otro estudio se reclutaron 63 niños, 0.5-16 años de edad, que fueron expuestos en útero a AVP. Los niños presentaban rasgos faciales distintos del síndrome de valproato, sin embargo presentaban una disminución en la índice de comprensión verbal (Kini et al., 2006), por lo que los autores comentan que una de las consecuencias por el uso de este fármaco y dado sus resultados son las alteraciones cognitivas.

Otro estudio que de igual forma reporta una disminución en el índice de comprensión verbal, obtenidos a través del uso de la prueba WISC-III, es el que realiza Vinten et al. (2005), y que adicionalmente ofrece otros hallazgos. Ellos llevan a cabo una investigación neuropsicológica en 249 niños entre las edades de 6 y 16 años, reportaron que los niños expuestos al valproato de sodio tenían un CI verbal significativamente menor en comparación con los niños expuestos a otros fármacos antiepilépticos o no expuestos en absoluto. Los mismos niños eran más propensos a tener un cociente intelectual por debajo de 69 (obtenido por la prueba WISC-III). En

este mismo estudio se proporcionaron hallazgos relacionados con el aprendizaje y la memoria, los cuales se encuentran propensos a presentar problemas. Sin embargo los autores comentan que en relación a la medición de memoria, al realizar una evaluación general, no se es preciso si otros tipos de memoria como verbal o visual podrían verse de igual forma alteradas. Por lo que sugieren realizar evaluaciones más detalladas que permitan precisar los efectos de este antiepiléptico en los procesos mnésicos.

Por lo anterior, las condiciones cognitivas de estos niños es un tema importante, ya que la conservación de los procesos mentales permite y facilita el adecuado desarrollo en los diferentes ámbitos de la vida. Un estudio en el cual se reporta las condiciones de estos niños a largo plazo, encuentran la presencia de necesidades educativas adicionales, debido al retraso en el desarrollo; especialmente en los primeros 2 años de vida, así como dificultades en general en su desarrollo óptimo (Adab et al., 2001).

En relación a las alteraciones en la conducta las cuales son otra característica que se han reportado en este síndrome, se ha mencionado que los niños expuestos prenatalmente al AVP presentan una alta frecuencia de comportamientos tipo autista, hiperactividad, ansiedad, trastorno por déficit de atención o algún trastorno del comportamiento, las cuales los limitan para el establecimiento efectivo de relaciones interpersonales (Moore et al., 2000).

Actualmente no existen tratamientos específicos para el síndrome de valproato fetal, cada defecto, síntoma o característica asociada con dicho síndrome se ha abordado de forma individual. En general, los niños con síndrome de valproato fetal que muestran retrasos en la comprensión y expresión del lenguaje, pueden ser beneficiados por terapia de habla temprana. La fisioterapia puede beneficiar a los niños con retrasos motores. Los niños que han sido diagnosticados adicionalmente con déficit de atención e hiperactividad el tratamiento común implica el consumo del medicamento como el metilfenidato, así mismo de manera general la terapia ocupacional es otro tipo de intervención que se ha ofrecido a este grupo de niños. Sin embargo las alteraciones propiamente cognitivas reportadas en ellos no se ha recibido un abordaje terapéutico (Qué es el síndrome de valproato fetal, 2015).

3.5 Modelos animales para el estudio del síndrome de valproato fetal

El uso de animales de laboratorio en la investigación representa un elemento fundamental, ya que con estos se generan modelos para comprender las causas, diagnósticos y tratamientos de algún padecimiento que afecta al humano. Cuando estos modelos son utilizados para el estudio de las alteraciones durante el desarrollo cerebral, resulta de gran importancia el conocimiento de las etapas de desarrollo que comprenden cada especie (humano y animal) de tal forma que, sí se busca intervenir en estadios específicos donde ocurre una alteración en el ser humano éste pueda ser homólogo en el desarrollo en el animal. Una de los animales comúnmente utilizados para la investigación son los roedores (rata o ratón). En relación a la rata, el desarrollo prenatal no es coincidente en tiempo al del humano; pero pueden compararse, como se muestra en la figura 2.

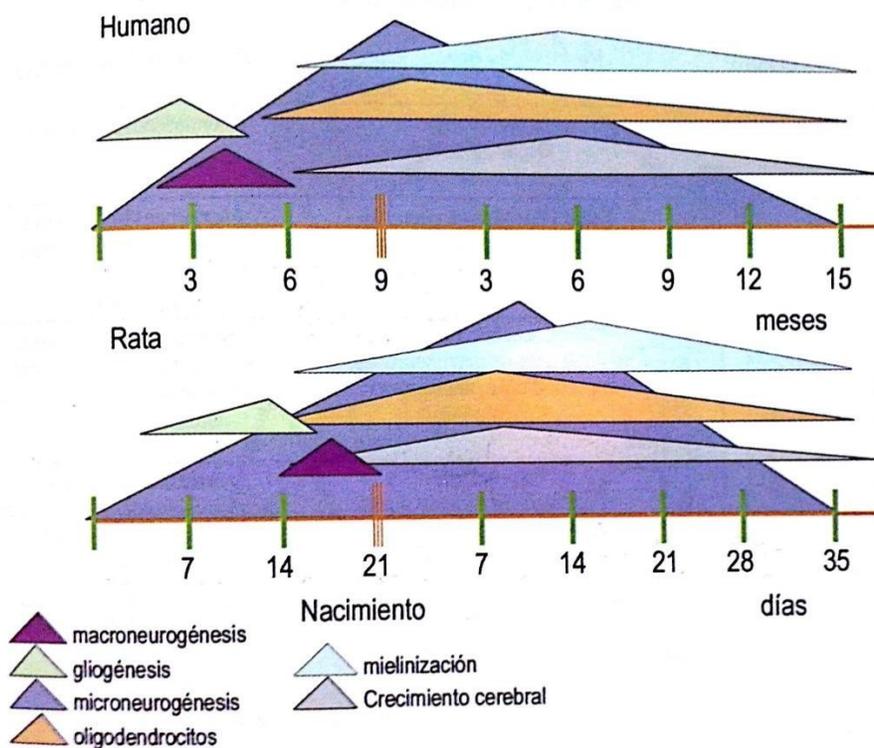


Figura 2. Comparación de eventos principales que ocurren en el desarrollo cerebral de rata y humanos. Los puntos máximos en las curvas corresponden a los periodos de vulnerabilidad relacionados con estados de maduración específicos en donde los factores endo- y exógenos pueden afectar el desarrollo cerebral normal. (Modificado de Morgane et al, 1993).

En el modelo animal de valproato fetal, los días 9-11 de gestación se consideran homólogos a los días 20-24 en humano, el cual es el periodo crítico para la ocurrencia de los defectos (Narita et al., 2002). Por lo que, la administración del AVP en modelos animales obedecer a la necesidad de intervenir en las fases de neurulación. El desarrollo de la rata se describe en la tabla 5.

Estadio	Días
2 células	24 horas
4 células	48 horas
Comienzo de la implantación (diferenciación entre partes embrionarias y extraembrionarias)	6-7 días
Primeros esbozos embrionarios	8 días
Neúrla presomita (fusión de pliegues, placa neural, embrión con somitos occipitales para neúrla por completo)	9-10 días
Embrión con 13-20 somitos	10- 11 días
Formación muñon de la cola	11 días
Final del periodo embrionario	12-13 días
Final de la morfogénesis	16 días
Cierre de parpados	18 días
Nacimiento	21 días
Apertura de parpados	16 días de edad (postnatal)

Tabla 5. *Desarrollo y crecimiento.* Las horas y días en esta tabla se refieren a tiempo transcurridos después de la fecundación. El proceso de neurulación en rata se describe en los días 9-10, los cuales pueden ser días susceptibles a la influencia de algún agente. (Illera, Illera del Portal & Illera del Portal, 1991).

Dentro de los alcances que ha ofrecido el modelo de valproato fetal en roedor se encuentra la descripción de la fisiopatología producida por dicho fármaco. Los

mecanismos de teratogenicidad que se han reportado implican, una combinación de los posibles cambios en el patrón de metabolitos de folato (Wegner & Nau, 1992), modificaciones en los procesos apoptóticos (Corneliu et al., 2004), inhibición de acetilación de histona (Phiel et al., 2001; Chen et al., 2007) y expresión de proteínas cinasas (Meador et al., 2007; Yamada, Shimizu, Kawabe & Ichitani, 2015).

Otra ventaja de este modelo es la posibilidad de abordar esta condición en diferentes niveles, que van desde molecular, sináptico, red neural, cognitivo hasta conductual (Cheaha, Bumrungsri, Chatpun & Kumarnsit, 2015).

En relación a las características físicas, se ha descrito la existencia de diferentes malformaciones, entre las que destacan defectos cardiovasculares, costillas onduladas, alteraciones vertebrales, malformación de extremidades y de cola (Vorhees, 1987). Menegola, Broccia, Di Renzo & Giavini (2002) realizan un estudio en el que comparan las observaciones obtenidas en ratas tratadas con 400 mg / kg valproato frente a ratas controles, en el estudio encontraron fusiones entre las costillas a nivel de los segmentos torácicos en 89% de la muestra y sólo el 9% de los fetos mostraron unión de segmentos lumbares, así como costillas onduladas.

En lo que corresponde al análisis microscópico se ha demostrado un número reducido de células motoras en los núcleos motores de los nervios craneales en el tronco cerebral (Ingram et al., 2000; Markram, Rinaldi, La Mendola, Sandi & Markram, 2008). Específicamente en el cerebelo se ha reportado un número menor de células de Purkinje y otras células cerebelosas (Ingram et al., 2000; Sobaniec-Lotowska, 2001). Por otro lado, en un estudio donde se utilizaron ratas Sprague-Dawley que fueron tratadas con VPA (800 mg / kg) por vía oral en el día gestacional (GD) 9 u 11, se observó (usando inmunohistoquímica) hipoplasia en la placa cortical de los cerebros; adicionalmente detectan para ambos grupos de exposición inhibición de la proliferación de células madre neurales y / o migración de las neuronas inmaduras en la corteza cerebral. Dentro de sus resultados también reportan que la ventana de tiempo en el cual se realiza la administración del fármaco resulta ser importante ya que, en su estudio encontraron diferencias entre el día 9 y 11. En el día 11 se observaron alteraciones en el puente, con un fascículo nervioso desorganizado y diferentes

patrones de distribución de neuronas serotoninérgicas en la parte dorsal y medial de los núcleos del rafe, lo anterior no se observó en las ratas cuya administración se realizó en el día 9 (Ku wagata et al., 2009).

Así mismo un estudio realizado por Nuvia, Bringas, Atzori & Flores (2014), demuestra que existen otras estructuras que pueden verse afectadas por este fármaco, ellos investigan el efecto de la administración prenatal de AVP (500 mg / kg) en el día embrionario 12, sobre las propiedades anatómicas de la corteza prefrontal, el hipocampo y la amígdala basolateral, en tres épocas diferentes: inmediatamente después del destete (posnatal día 21 PD21), prepuberal (PD35) y pospuberal (PD70); encontrando que el espesor de la corteza prefrontal y en el hipocampo dorsal de CA1 tenían un tamaño reducido en todas las épocas que se evaluaron en el estudio. En las épocas PD35 y PD70 reportaron una reducción en el tamaño de la amígdala basolateral. Por último reportan una reducción de la arborización dendrítica en PD35 y PD70, y una disminución en la densidad de espinas dendríticas pero únicamente en el día PD70, en el hipocampo dorsal. Otras alteraciones reportadas en el hipocampo se especifican en el estudio realizado por Bristot Silvestrin et al. (2013) las cuales están relacionadas con la recaptura del glutamato a través de los transportadores gliales GLAST y GLT1, estos fueron medidos in vitro en ratas expuestas prenatalmente a AVP en los días 15 y 20 posnatales. Reportando aumentos significativos en la recaptura de este neurotransmisor en el hipocampo de las ratas del día posnatal 20, debido al aumento de la expresión de la proteína GLT1. Este tipo de hallazgos según los autores proporcionan una mejor comprensión de los posibles correlatos neurobiológicos que regulan las alteraciones del comportamiento y cognitivos inducidos por la administración prenatal de AVP.

Precisamente en relación a los procesos cognitivos explorados a partir del modelo animal, se ha descrito que la capacidad de aprendizaje en ratas adolescentes expuestas prenatalmente al VPA se encuentra alterada, debido a que existe un daño en el proceso de potenciación a largo plazo y depresión a largo plazo (Zhang, Xiao, Yu & Ruan, 2003). Por otro lado, Frisch et al., (2009) utilizan a ratas con 30 días de edad tratadas con dosis altas de AVP, con concentraciones séricas máximas ligeramente por

encima de 100 g / ml. para explorar el aprendizaje y adicionalmente la memoria, medido a partir del desempeño en un laberinto acuático. Estos autores reportan la existencia de déficits en el aprendizaje y la memoria en el grupo de ratas tratadas con AVP.

En otro estudio donde se utilizó el laberinto de agua de Morris, (Wagner, Reuhl, Cheh, McRae & Halladay 2006), Se administró 600 mg/kg en el día embrionario 13. El objetivo fue evaluar la capacidad de aprendizaje espacial, medido en los días postnatales 20-26 en ratones. Los resultados de este estudio indican diferencias significativas en el aprendizaje espacial entre los ratones tratados con solución salina vs ratones tratados con AVP.

El laberinto de Morris no ha sido la única herramienta utilizada para la evaluación cognitiva en este modelo. Narita et al., (2010), utilizaron un laberinto radial, para investigar el proceso de aprendizaje, así como la presencia de conductas estereotipadas dentro del laberinto. Administraron AVP (800 mg / kg), por vía oral a ratas preñadas en el día 9. En sus resultados las ratas tratadas tenían mayor dificultad en el aprendizaje de la tarea en el laberinto radial, comparadas con un grupo control al cual únicamente se les administró solución salina, sin embargo reportaron que no hubo diferencias en relación a los errores que pudieran cometer en el laberinto; únicamente informan diferencias en la adquisición del aprendizaje.

3.6 Enriquecimiento ambiental como estrategia de rescate

Una de las características que hace al SN uno de los órganos con la mayor organización es, su plasticidad. La plasticidad implica maleabilidad y su sinónimo es el cambio, desde la etapa fetal hasta la vejez, el SNC no cesa de transformarse. Específicamente la plasticidad cerebral se refiere a un proceso caracterizado por cambios adaptativos estructurales y funcionales que se efectúan como consecuencia de la alteración ontogénica del SN. Esta propiedad es fundamental para la capacidad de adaptación en los procesos de desarrollo y la reparación del cerebro (Brailowsky, 2004).

Los mecanismos plásticos están ligados a una serie de determinantes (Brailowsky, 2004), los cuales son:

1. El SN de mamíferos jóvenes posee una plasticidad mayor que la que presenta los adultos, lo anterior puede deberse a la considerable remodelación que debe llevarse a cabo durante el periodo postnatal, ya que las neuronas tienden a aumentar su complejidad celular y los circuitos adquieren mayor estructuración.
2. La participación de neuropéptidos y factores tróficos desempeñan una función de suma importancia en los fenómenos de reconexión.

Así, la neuroplasticidad no sólo consiste en la recuperación funcional, ni tampoco los cambios estructurales y funcionales de la organización neuronal después de una lesión. El término incluye, incluso, la capacidad del SNC para adaptarse a condiciones fisiológicas nuevas surgidas en su maduración y aquellas debidas a la interacción con el medio (Kolb & Gibb, 2011).

Como se describió en el párrafo anterior los factores ambientales pueden ser influyentes en la función y estructura cerebral, de forma que la experiencia puede tener consecuencias perdurables en diferentes niveles de integración.

Existe una creciente evidencia que apunta al enriquecimiento ambiental como la inductora de ajustes a largo plazo de los sistemas neuroconductuales implicados en el aprendizaje, la memoria y el comportamiento como sería las respuestas defensivas (Laviola, Hannan, Macrì, Solinas & Jaber, 2008). Debido al impacto que ejerce el ambiente sobre el SNC, se puede observar que niños criados en ambientes de escasa estimulación presentan alteraciones de conducta y de funciones cognitivas, mientras que niños criados en ambientes ricos en estimulación resuelven mejor pruebas que evalúan rendimiento cognitivo y presentan menos problemas de conducta (Kaler & Feeman, 1994; Joseph, 1999).

Por otro lado, el hecho de que las experiencias vividas por el organismo durante la infancia produzcan cambios estables en las estructuras nerviosas que están

madurando, sugiere que sucesos vitales adversos ocurridos durante la infancia como situaciones de abuso o negligencia por parte de los padres, pueden alterar el patrón de desarrollo cerebral y posteriormente puede traducirse en una mayor vulnerabilidad para sufrir determinados trastornos (Heim & Nemeroff, 2001).

Por lo que se ha planteado la posibilidad de diseñar estrategias de intervención encaminadas a prevenir la aparición de trastornos asociados a determinados sucesos ocurridos durante las primeras etapas de la vida de un organismo. Algunas de estas intervenciones se han dirigido a incrementar las habilidades cognitivas y sociales, disminuir los desajustes emocionales y mejorar la calidad de vida de los niños procedentes de sectores de la población con bajos niveles socioeconómicos o en situación de riesgo (Raine et al., 2001).

Este tipo de intervención ha sido empleada en algunos niños con afecciones neurológicas, ya que se reporta mejorías en las capacidades motoras, por ejemplo, se ha utilizado en niños con parálisis cerebral (Palmer et al., 1990) u otras lesiones cerebrales (Van't Hooft, Andersson, Sejersen, Bartfai & von Wendt, 2003). Junto al enriquecimiento ambiental, otro aspecto que tiene gran relevancia, es la interacción social; éste es otro factor crucial para el desarrollo adecuado del SNC. Se ha reportado que el aislamiento social produce hiperactividad locomotora en un ambiente nuevo, incrementando niveles de ansiedad y agresividad (Bowling & Bardo, 1994) Por lo que la manipulación y la implementación, durante primeras etapas de la vida, de un ambiente enriquecido en conjunto con la interacción social con pares pueden ser factores importantes para proporcionar un soporte en la organización del SNC.

Por otro lado, y en relación al estudio de enriquecimiento ambiental en animales, estos se han descrito como la estimulación sensorial mediante el aumento de interacción física entre individuos y objetos de exploración. Este tipo de ambiente en un laboratorio se conforma al colocar grupos numerosos de animales (6-8 animales), en cajas con dimensiones mayores que las condiciones estándar, acompañado de la introducción al interior de la caja de diversos objetos como juguetes, tubos a manera de túneles y objetos para realizar ejercicio voluntario (ruedas para correr) (Venebra-Muñoz, Corona & Caba, 2008). El efecto del enriquecimiento más llamativo y que ha

despertado interés por su posible proyección terapéutica y preventiva es el impacto de estos sobre procesos cognitivos y de conducta.

En los primeros trabajos de AE los investigadores se interesaron por cuestiones tales como cuánto tiempo de enriquecimiento era necesario para aumentar las habilidades del animal, o en qué momento de la vida se debía producir la experiencia de enriquecimiento para que pudiera reflejarse en la conducta (Forgays y Reid 1962; Diamond, 2001). Uno de los hallazgos relacionados a las cuestiones planteadas, lo ofreció el realizado por Diamond (2001), en el cual se analizaron los efectos del AE administrado en ratas de diferentes edades (de 0 a 21 días, de 22 a 43, de 44 a 65, de 66 a 87 y de 88 a 109 días) y 2 semanas después de la finalización del enriquecimiento evaluaron las habilidades cognitivas de estos animales en el laberinto Hebb-Williams. Se describe que el tratamiento de AE mejoró la habilidad de las ratas en el laberinto a cualquier edad, aunque las diferencias más marcadas se produjeron en el grupo que había recibido enriquecimiento del día 22 al 43. Estos resultados obtenidos en una tarea de aprendizaje mostraron consistencia con aquellos datos provenientes de los estudios anatómicos y morfológicos que indicaban que el desarrollo de la corteza cerebral podría ser modulada a cualquier edad a consecuencia del AE, pero había unas edades en las que los efectos observados eran más contundentes que en otras (Diamond, 2001). Igualmente, respecto a si los efectos del enriquecimiento persisten en el tiempo tras la finalización del tratamiento, se encontró que la exposición a un ambiente enriquecido durante 80 días iniciado tras el destete de las ratas produce mejoras en procesos cognitivos como la memoria de trabajo, evaluado mediante la prueba de reconocimiento de objetos a los 18 meses de edad, sugiriendo efectos a largo plazo del AE (Escorihuela., Tobena , 1995).

Se sabe que algunos de los cambios reportados de manera general por el uso de AE en ratas son el incremento de peso y volumen cortical de hasta el 5% (Rosenzweig et al., 1962). Este efecto se observó especialmente en la corteza visual, frontal posterior, así como en el volumen del hipocampo (Walsh, Budtz-Olsen, Penny, & Cummins, 1969). Incluso estas modificaciones se han reportado en la propia morfología

celular. Así, tras el enriquecimiento ambiental se menciona una expansión del citoplasma en las células cerebrales de la rata (Greenough et al., 1973).

Se ha descrito en general, que el AE es eficaz para el aumento en el rendimiento de tareas de aprendizaje viso-espacial y la ejecución de los animales en tareas hipocampo-dependientes, como son el reconocimiento de objetos, en el laberinto Hebb-Williams (Brown, 1968; Galani et al., 1997), el laberinto radial de 17 brazos (Juraska et al., 1984; Nieto & Moreno, 2011) y el laberinto acuático de Morris (Escorihuela, Tobena, 1995; Merritt & Rhodes, 2015). Sugiriendo que sus efectos podrían estar relacionados con la modulación de la actividad de estructuras subcorticales.

La conducta social de ratones también se vio afectada por el enriquecimiento ambiental, aunque los ratones provenientes de AE tendían a ser más dominantes, a la vez mostraron más conductas afiliativas y menos agresividad en las interacciones sociales que (Pietropaolo et al., 2004).

Además se ha demostrado que, posterior a una lesión, el AE ejerce un efecto en el peso cerebral, en el número de dendritas y espinas, en el grado de ramificaciones dendríticas y el número de sinapsis por neurona (Kolb et al., 1998).

Así, el AE parece ser una herramienta útil para disminuir las secuelas de ciertos tipos de daño cerebral, tomando en cuenta que los efectos del AE son, en general, específicos de la lesión: se han demostrado efectos beneficiosos del AE en ratas con lesiones en el hipocampo, pero no en ratas con lesiones en otras zonas como el subículo o la corteza entorrinal (Galani et al., 1997). En relación a las lesiones en hipocampo, en un estudio, donde se implementó el AE, se observó una reducción en un 45% la muerte neuronal por apoptosis e incrementó la resistencia ante las lesiones y la supervivencia de nuevas neuronas en el hipocampo de las ratas (Young et al., 1999).

Los estudios relacionados al campo de investigación de los AE se han dirigido a la búsqueda de los efectos de protección, intervención o rehabilitación a través de diferentes modelos animales. Se han encontrado varias aplicaciones de los AE, por ejemplo, para contrarrestar los déficits neurofisiológicos y de comportamiento inducidos por manipulaciones farmacológicas o ambientales. Su uso ha sido empleado para la

modificación de reactividad emocional y mejorar habilidades motoras que son consecuencia de estrés prenatal. Por otro lado en ratas adultas los síntomas depresivos y de ansiedad se ven reducidos al ser expuestos a AE (Laviola et al., 2008).

En otras condiciones en las que se ha empleado AE en modelos de ratones transgénicos de la enfermedad de Huntington y la enfermedad de Alzheimer, se ha abierto el camino para la exploración de las interacciones gen-ambiente en la neurodegeneración, así mismo se ha reportado que los AE pueden prevenir el deterioro de los procesos atencionales detectado en ratas de edad avanzada. También se ha identificado los efectos del AE en otros trastornos cerebrales que serán descritos en la tabla 6.

Trastorno	Efectos sobre la conducta
Enfermedad de Huntington	Retardo en el inicio y progresión de síntomas motores; mejora en el déficit de memoria espacial.
Enfermedad de Alzheimer	Mejora en el aprendizaje y la memoria
Enfermedad de Parkinson	Mejor recuperación en la función motora
Esclerosis lateral amiotrófica	Retraso en la aparición de alteraciones en la coordinación motora.
Epilepsia	Disminución de las crisis; atenuada reducción de déficit en la actividad exploratoria y del aprendizaje espacial.
Evento Vascular Cerebral (EVC)	Mejora en la recuperación de la funcionalidad, así como en las habilidades motoras y cognitivas.
Lesión cerebral traumática	Disminución leve en déficits motores y cognitivos
Síndrome X frágil	Mejora en las alteraciones del comportamiento exploratorio
Síndrome de Down	Mejora en el déficit de aprendizaje.

Tabla 6. Efectos del enriquecimiento ambiental sobre los trastornos del SNC en modelos animales. EVC= Evento Vascular Cerebral. Descripción de los efectos del enriquecimiento ambiental en varias formas de lesión cerebral. (Nithianantharajah & Hannan, 2006).

Los efectos moleculares, estructurales y por lo tanto conductuales que se han reportado debido al uso de la estimulación ambiental, podría orientar al desarrollo de nuevas clases de intervenciones terapéuticas para otra gama de alteraciones en las cuales no ha sido empleada este tipo de estimulación.

Específicamente en relación al modelo animal de AVP se ha empleado el AE en un estudio con el objetivo de buscar el efecto del mismo sobre el comportamiento alterado en ratas macho expuestas a AVP en el día 12,5 de gestación. Se encuentra en este estudio que el enriquecimiento ambiental corrigió casi todas las alteraciones de comportamiento (Schneider, Turczak & Przewłocki, 2006). Por otro lado, la exploración sobre los posibles efectos del ambiente enriquecido sobre la cognición en el modelo de AVP no ha sido explorada.

3.7 Memoria

Uno de los procesos que comúnmente se ha asociado a la memoria es el aprendizaje, debido a que éste subyace a los mecanismos implicados en la memoria. Así pues, aprendizaje se ha definido como un proceso mediante el cual ocurren cambios relativamente permanentes a nivel conductual, mientras que la memoria es el proceso en el que un organismo adquiere, retiene y recupera la información (Anderson, 1995; Kandel & Hawkins, 1992). El proceso de adquisición es visto como la etapa en que se recibe la información, es decir la codificación, mientras que la consolidación o retención implica que la información se transfiera a un almacén relativamente permanente. Por último la recuperación o evocación es la etapa en donde la información es reactivada. Adicionalmente el aprendizaje y la memoria se han descrito como adaptaciones de los circuitos cerebrales al entorno, que en ocasiones pueden durar toda la vida, permitiendo responder adecuadamente a situaciones que ya hemos experimentado antes (Bear, 2008).

Los estudios de aprendizaje tanto en humanos como en animales se concentran en la fase de adquisición, la cual es vista como la etapa en que se recibe la información a partir de los elementos previamente percibidos. Mientras que los estudios de memoria

una vez que se ha logrado la adquisición, se concentran en la retención, y en la evocación de la información (Domjan, 2010; Lieberman, 2012).

Uno de los modelos más atractivos relacionado con el proceso de memoria fue el propuesto por Atkinson y Shifrin (1968). De acuerdo a su modelo la información es acumulada en tres componentes que transcurren de forma lineal y cada uno con características propias, las cuales son; un registro sensorial, un almacén a corto y otro a largo plazo. A partir de estos componentes los autores plantean la explicación del funcionamiento de la memoria. Sin embargo, las críticas al modelo de estos autores impulsaron el desarrollo de nuevas posturas con mayor poder explicativo, uno de los más relevantes es el propuesto por Baddeley & Hich (1974) introduciendo el concepto de memoria de trabajo y eliminando el de memoria a corto plazo.

El concepto de memoria de trabajo, fue planteado como un sistema multicomponente que utiliza almacenes como parte de su función para facilitar actividades cognoscitivas complejas tales como el aprendizaje, la comprensión y el razonamiento (Baddeley, 2000). Este concepto se enfatiza como un sistema funcional e integral para mantener y manipular la información durante la ejecución de una tarea cognoscitiva (Baddeley, 2000).

Por otro lado, para la denominada memoria a largo plazo, esta conserva su nombre y es clasificada en declarativa (explícita) y no declarativa (implícita), lo anterior concebido por Squire (1992), quien refiere a la primera como memoria de hechos y eventos que son reconocidos conscientemente, mientras que la memoria no declarativa es expresada por la ejecución sin algún requerimiento de contenido consciente. En relación a la memoria declarativa esta a su vez se divide en las siguientes; se dice que cuando un ítem es evocado conscientemente incluyendo la información acerca del contexto en el cual el ítem fue codificado, se ha definido como memoria episódica. Por otro lado cuando un ítem ha sido clasificado como reconocido pero sin que se evoque la información del contexto se ha denominado como memoria semántica (Tulving, Schacter, McLachlan & Moscovitch, 1988).

De acuerdo con su más reciente definición, la memoria episódica (EM) se refiere a acontecimientos personales recolectados en el contexto de un determinado tiempo y lugar, con referencia a uno mismo como participante de un episodio (Tulving, 2001). La capacidad de memorizar el contexto, está relacionado a la información espacio-temporal de los núcleos fácticos (por ejemplo, objetos, fotos), dando como resultado una configuración global de toda una serie de elementos espaciales (Chun & Jiang, 2003; Picard, Cousin, Guillery-Girard, Eustache & Piolino, 2012). Esta disposición espacial global proporciona una señal de predicción a la ubicación del objetivo. Adicionalmente se ha referido que este tipo de memoria ayuda a codificar y a recuperar mejor algún recuerdo de hechos (Chun & Phelps, 1999). Por lo que, una memoria contextual facilita el desempeño en las tareas relacionado con la búsqueda visual basado en asociaciones aprendidas entre los objetivos y el contexto visual circundante (Chun & Jiang, 1998; Olson & Chun, 2002).

3.8 Estudio de memoria de trabajo y de referencia en ratas

El estudio de la memoria de trabajo y la memoria contextual, ha sido analizado en una amplia variedad de especies. En investigación animal la memoria contextual, puede referirse como memoria de referencia o espacial (Olton & Papas, 1979; Cabrera, 2009; Guitar & Roberts, 2015), mientras que la expresión memoria de trabajo se conserva.

En términos de aprendizaje animal, la memoria de trabajo se refiere a la situación en la que el animal necesita retener información entre algunos ensayos durante el mismo día (Olton, 1978). Esta se retiene en el tiempo suficiente para terminar una tarea determinada (Domjan, 2010). Mientras que la memoria de referencia es la retención a largo plazo de una asociación entre estímulos visuales necesarios para el uso exitoso de la información entrante, permitiendo al animal identificar las invariantes existentes en el arreglo ambiental que indican lugares de abundancia o de escasez de recursos (Honig, 1978; Cabrera, 2009).

La diferencia principal entre ambos tipos de memoria (de trabajo y de referencia) puede definirse en términos de la estabilidad de la información. Por un lado en la

memoria de trabajo la información es inestable a lo largo del tiempo, ya que ésta va cambiando. En el caso de la memoria de referencia el organismo debe recordar una serie de reglas que son las mismas a lo largo de los ensayos. Así pues, la memoria de referencia es aquella cuyos contenidos son estables a lo largo del tiempo, mientras que la memoria de trabajo es aquella que se emplea con el objetivo de monitorear las características variables de la experiencia que, en conjunto con las características estables, determinan la respuesta adecuada (Olton & Papas, 1979).

Una de las técnicas más útiles para estudiar tanto la memoria de trabajo y la memoria de referencia son los laberintos, algunos de ellos son; el laberinto de agua de Morris (1981) y el laberinto radial de Olton y Salmuelson (1976). El laberinto radial, en especial, fue diseñado como un procedimiento conductual, el cual cuenta con demandas diferenciales de la memoria de trabajo pero también de memoria de referencia, este principalmente utilizado en ratas. El instrumento consiste en un laberinto de madera, que originalmente se formaba de ocho brazos y que posteriormente se amplió hasta 17 brazos. Los brazos irradian a partir de una plataforma central.

Olton & Papas (1979) subdividieron los 17 brazos en dos grupos; 8 brazos formarían el conjunto de brazos “con reforzador” y los otros nueve brazos formaban el conjunto de brazos “sin reforzador”. Al final de cada uno de los brazos con reforzador colocaban un pellet de alimento y nunca se remplazaba en la misma sesión una vez que el animal lo había consumido. A los brazos del conjunto “sin reforzador” nunca se les colocó alimento.

Al inicio el animal era colocado en la plataforma central, con todas las puertas cerradas impidiendo el paso de la rata a cualquiera de los brazos, posteriormente las puertas se abrían dando origen a un ensayo, y de esta manera el animal pudiera elegir un brazo, recorriéndolo y tomando el reforzador, sí es el caso. Una vez que el animal vuelve a la plataforma central se cerraban las puertas por diez segundos y después de ese tiempo las puertas se volvían a abrir dando inicio al siguiente ensayo. En esta tarea, lo que el animal debía de mantener en la memoria es diferente para el conjunto de brazos “con reforzador” y para los “sin reforzador”. En el caso de los brazos “con

reforzador” la respuesta variaba a lo largo de los ensayos, en un ensayo en el cual un brazo con reforzador no había sido visitado aún, la respuesta correcta era entrar a éste. Sin embargo, en los ensayos siguientes la respuesta correcta era no regresar a dicho brazo, dado que el reforzador ya había sido consumido. Para el conjunto de los brazos “sin reforzador” la respuesta correcta en todo momento era no entrar a ellos, ya que no existía reforzador, por lo tanto, la rata debía “recordar” cuáles son los brazos sin reforzador ya que esta información era constante durante todas las sesiones. La memoria de referencia y un error en la misma era considerada cuando existía entrada a un brazo sin reforzador, ya que esta memoria está relacionada con retención a largo plazo de la invariabilidad de los estímulos del ambiente a lo largo de los ensayos. Mientras que cada entrada subsiguiente a un brazo con reforzador donde ya se ha consumido el reforzador, es considerada como error de la memoria de trabajo, ésta entendida como el mantenimiento de la información relacionada a las características variables de la experiencia entre algunos ensayos durante el mismo día.

Adicionalmente Olton & Papas (1979) demostraron que las ratas aprenden la tarea de discriminación espacial sin dificultad y que este aprendizaje podría estar dependiendo primordialmente con pistas extralaberinto. Estos datos han sido apoyados por investigaciones posteriores. Suzuki et al., (1980) demostraron que la ejecución de las ratas es mejor con pistas extralaberinto que con pistas intralaberinto, ya que estos son usados como estímulos, que en su conjunto generan un mapa espacial, permitiendo una “flexibilidad conductual” para la ejecución correcta de las tareas en laberintos espaciales. Considerando a los mapas espaciales como un sistema que representa los conocimientos acerca del medio ambiente, esto permite al organismo distinguir un lugar en un medioambiente familiar de otro (Morris, 1981).

Esta herramienta de laboratorio ofrece una validez ecológica, a diferencia del laberinto de Morris, ya que el laberinto radial permite el estudio de memoria sacando provecho de las estrategias evolucionadas de las ratas para la búsqueda de alimento (Hodges, 1996). Sin dejar de lado el Laberinto de agua de Morris, el uso de laberintos para el estudio de memoria en rata, resultan ser herramientas útiles en la investigación de este proceso.

Por otro lado, al continuar con el estudio de memoria en los animales, se comenzó a relacionar estructuras cerebrales como la región temporal medial, específicamente el hipocampo, como base de este tipo de procesamiento, y se propone que dicha estructura tiene un papel esencial en tareas de memoria declarativas que dependen de la relación y combinación de la información. Así esta región es activada cuando existe una demanda de aprendizaje por asociación o relaciones entre ítems en un episodio (Brasted, Bussey, Murray & Wise, 2003).

Se ha observado que el hipocampo es importante para el aprendizaje espacial. Este tipo de procesamiento espacial se logró identificando las denominadas neuronas de lugar registradas en ratas, que al estar ubicadas en un espacio específico este grupo de neuronas disparaban, pero al cambiar de sitio a la rata, estas neuronas no lo hacían, es decir, las neuronas de lugar se activan en un episodio y lugar determinado (Morris, Garrud, Ramlins & O'Keefe, 1982). Se ha reportado que animales con daño en el hipocampo presentan una ejecución muy pobre en tareas de memoria espacial (Squire & Knowlton, 2000), por lo que se ha propuesto que esta estructura está relacionada con un mapeo cognoscitivo, entendido como el establecimiento de una representación neuronal organizada en función del ambiente físico (Morris, Garrud, Ramlins & O'Keefe, 1982).

Aunque autores como Olton & Papas (1979) propusieron que el hipocampo es esencial para el buen funcionamiento de la memoria de trabajo y no para el procesamiento de memoria de referencia espacial, existe evidencia que respalda que esta estructura se encuentra relacionada tanto para procesos de memoria espacial como para memoria de trabajo, la diferencia podría estarse observando en la especificidad de la lesión, ya que se ha demostrado que las lesiones del hipocampo dorsal y el fórnix se encuentran mayormente relacionadas con deterioro de la adquisición de la memoria de referencia espacial y no tanto a la memoria de trabajo (Galani, Obis, Coutureau, Jarrard, & Cassel, 2002; Pothuizen, Zhang, Jongen-Rêlo, Feldon & Yee, 2004; Yamada et al., 2015).

Una de las consecuencias de la exposición prenatal a AVP se ha evidenciado en el hipocampo (Bristot Silvestrin et al., 2013; Cheaha et al., 2015). En un estudio realizado

por Nuvia et al., (2014) tenían como objetivo investigar el efecto de la administración prenatal de AVP (500 mg / kg) en el día embrionario 12, sobre las propiedades anatómicas de la corteza prefrontal, el hipocampo y la amígdala basolateral, en tres épocas diferentes: inmediatamente después del destete (postnatal día 21), prepuberal (PD35) y pospuberal (PD70). Los autores reportan un espesor reducido en la corteza prefrontal y CA1 del hipocampo dorsal, en todas las edades de estudio al comparar animales expuestos prenatalmente vs controles.

En concreto los factores como el AVP ha demostrado afectar el desarrollo de estructuras cerebrales, como es el caso del hipocampo, y que posiblemente podrían estar relacionados con las alteraciones en el rendimiento de tareas de memoria (Snyder et al., 2005), lo anterior ha sido apoyado con el estudio que realiza Umka et al., (2010), estos investigadores utilizan un modelo animal en rata para investigar los efectos cognitivos de la exposición al AVP, en una tarea de memoria dependiente del hipocampo, la cual era; la prueba de ubicación de objeto, obteniendo como resultados que el tratamiento subcrónico al AVP afecta la memoria espacial , lo que se reporta es una reducción en la proliferación celular en la zona subgranular de la circunvolución dentada, estos autores mencionan que sus resultados indican que el tratamiento prenatal con AVP puede inducir déficits cognitivos, debido a una reducción en la neurogénesis en el hipocampo.

Justificación

Como se muestra en los antecedentes, los estudios clínicos en hijos de madres usuarias de AVP presentan alteraciones cognitivas, específicamente en los procesos de aprendizaje y memoria. El análisis de la memoria, según algunos autores, se ha realizado de manera general por lo que un estudio a profundidad podría proporcionar mayor información sobre las alteraciones mnésicas específicas debidas a la exposición al AVP.

Por otro lado, los hallazgos en el modelo en ratas han sido: alteraciones en diferentes áreas a nivel cerebral como son; la corteza prefrontal, el hipocampo y la

amígdala, siendo el hipocampo una de las estructuras relacionada con procesos de memoria, específicamente memoria espacial y memoria de trabajo. En relación a las habilidades cognitivas evaluadas, se informan alteraciones en memoria y aprendizaje, las cuales han sido exploradas con diversos instrumentos, por ejemplo, para la evaluación de la memoria espacial, se ha usado un Laberinto de agua de Morris, mientras que el estudio de aprendizaje, el laberinto radial ha sido uno de los instrumentos utilizados, siendo éste una herramienta no solo para el estudio de aprendizaje sino de la memoria espacial e incluso de la memoria de trabajo, esta última sin ser estudiada en el modelo de AVP. Por lo cual el uso de instrumentos, como los laberintos u otros, permitiría indagar más sobre qué otras habilidades cognoscitivas podrían verse afectadas debido al uso prenatal de AVP.

Por otro lado, en relación al AE se ha demostrado su efecto en múltiples aspectos de la función cerebral. Se sabe que mejora la actividad cognitiva y conductual como resultado de lesiones cerebrales. Aspectos como el aprendizaje y la memoria, se han visto modificados de forma positiva debido al uso de AE. Específicamente en el modelo de AVP en rata, se han implementado ambientes para mitigar las alteraciones en el comportamiento producto de la exposición prenatal al fármaco. Sin embargo no se ha reportado cuál sería el impacto del AE sobre las habilidades cognoscitivas.

4. Planteamiento del problema

¿La exposición al AVP en el día 10 de gestación afectará en la adquisición y en la estrategia para memoria de referencia y memoria de trabajo?

¿La exposición a distintos tipos de ambientes enriquecidos modificará la adquisición y en el establecimiento de la estrategia de memoria de referencia y memoria de trabajo en el grupo de ratas expuesta prenatalmente a AVP?

5. Objetivos

1. Caracterizar en el modelo de valproato fetal el desempeño en una tarea de aprendizaje y memoria (trabajo y referencia).
2. Determinar si la exposición a ambientes enriquecidos mejora el desempeño en una tarea de aprendizaje y memoria, en el grupo de ratas expuestas prenatalmente a AVP.

5.1 Hipótesis

1. El desempeño en la tarea de aprendizaje y memoria se encuentra modificado en el modelo de valproato fetal.
2. La exposición a ambientes enriquecidos mejora el desempeño en la tarea de aprendizaje y memoria para el grupo de ratas expuestas prenatalmente a AVP

6. Método

6.1 Sujetos

Se utilizaron trece ratas gestantes de la cepa Wistar (con un peso de 280 g al comienzo de la gestación), las cuales se obtuvieron de la Facultad de Psicología, UNAM, las hembras y sus crías se alojaron en el Bioterio de la Facultad y se utilizaron únicamente los machos de cada camada teniendo un total de 24 ratas macho para el estudio. Se mantienen en un ciclo de luz-oscuridad 12-12 (luces encendidas a las 06:00 h), tanto la temperatura (20-22 ° C) y humedad (45-55%) se conservan constantes durante todo el procedimiento.

6.2 Materiales

- Valproato de magnesio (Trankitec-S) solución 200 mg/ml.
- Solución salina isotónica (NaCl al 0.9%).
- Cánula para la administración oral del fármaco.

- Jeringas de 3.0 ml, Sonda rígida de 7.5 cm.
- 6 cajas estándar y 2 cajas enriquecidas (las cuales serán especificadas en los siguientes párrafos).
- 4 tubos de plástico, 2 pelotas plásticas de 8 cm, 2 ruedas para hacer ejercicio de metal, 2 tubos de PVC y 2 rampas de acrílico

6.3 Aparatos

Laberinto radial: Se encontró a 1 m elevado del piso. La plataforma del centro con una medida de 30 cm de diámetro y cercada por una pared de acrílico transparente de 30 cm. de altura. La pared tenía una puerta (9x12 cm.) para cada uno de los nueve brazos. Estas puertas pueden estar cerradas por otra pared de acrílico transparente para evitar que los sujetos salgan de la plataforma central. Los brazos median 10 cm. de ancho y 60 cm. de largo, la parte más cercana al centro con una pared de acrílico de 12 cm. de altura y 25 cm. de largo. Al final de cada brazo estaba colocado un comedero de 3 cm. de diámetro y 1 cm. de altura.

7. Procedimiento

Para la obtención de las trece ratas hembras, se solicitaron al Veterinario a cargo de la Facultad de Psicología, el cual hizo entrega una vez que las ratas se encontraban en gesta.

Al obtenerlas, se alojaron en el Bioterio de dicha Facultad, con acceso ad libitum a comida y agua. Cumplidos los 10 días de gestación se realizó la administración vía oral del fármaco, utilizando una sonda (VPA, 600 mg/kg disuelto en 250 mg/ml de solución salina), para obtener las crías que formaron el grupo experimental, mientras que para el grupo control se administró un volumen similar, pero de solución salina (Figura 3). La administración del vehículo se realizó de la siguiente forma: Se sujetó al animal manteniéndolo en forma vertical y se colocó la sonda en el hocico; con movimientos suaves y firmes se introdujo la sonda, siguiendo el movimiento de deglución del animal se administró tanto el valproato de sodio o la solución salina, respectivamente La

cantidad administrada fue dependiente del peso de la rata. Los subsiguientes días se mantuvieron a las ratas gestantes en cajas individuales y sin ser manipuladas.

Al nacimiento se registró la duración de la gestación. Diariamente se llevaron a cabo observaciones a las camadas con el fin de recolectar datos como la muerte experimental y el día de apertura de los párpados (que se consideraron un marcador morfológico del desarrollo).

El destete se realizó en el día postnatal (PN) 21, y se separaron machos y hembras. Se tomaron a 12 ratas machos de cada condición (control y experimental) y se colocaron al azar en algunas de las condiciones: ambiente estándar individual (N=6) o ambiente enriquecido social (N=6). De esta forma los grupos quedaron conformados por el mismo número de sujetos (Figura 3).

Se entendió como ambiente estándar individual al alojamiento de 1 rata en una caja de 27x21x14 cm. que contenía una cama de aserrín, un comedero y un bebedero. Mientras que un ambiente enriquecido social, estaba conformado de 6 ratas las cuales habitaban en una caja de dos pisos, con un primer piso de 100 x 43 cm. y una altura de 50 cm. Dentro de esta caja se colocaron diversos objetos como túneles, rampas, ruedas de actividad, y pelotas, con los que podía tener contacto las ratas a toda hora del día. Una vez que se asignó a las ratas a algunas de estas condiciones ambientales se mantuvieron en las mismas durante la totalidad del estudio.

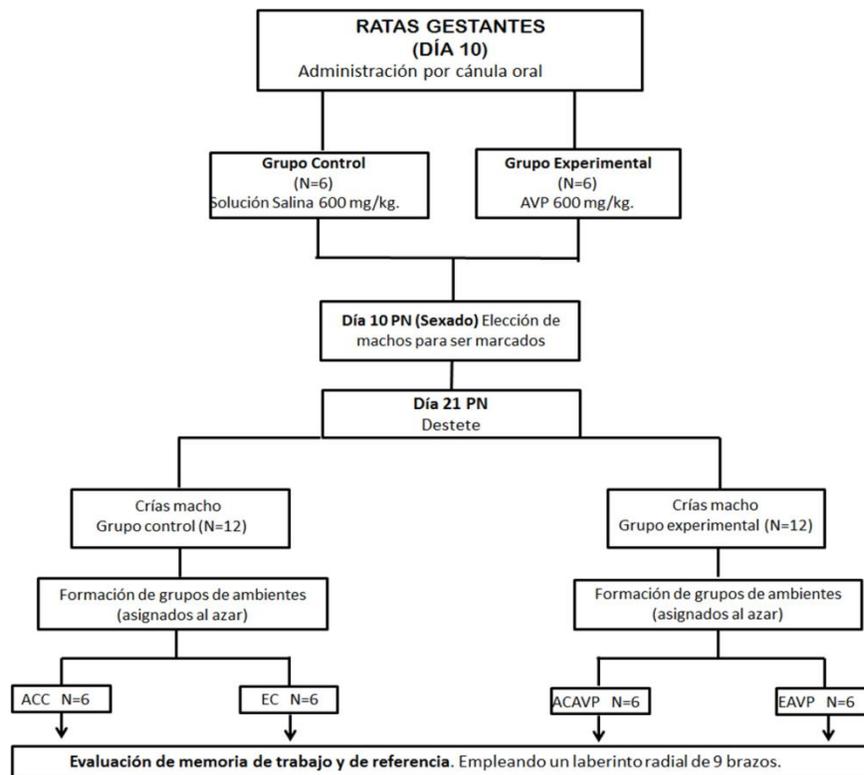


Figura 3. *Procedimiento*. Diseño y procedimiento para la obtención de machos y sus condiciones ambientales, tanto para el grupo experimental y control. AVP= ácido valproico; PN= postnatal; ACC= ambiente control-control; EC= enriquecido control; ACAVP= ambiente control-ácido valproico; EAVP= ambientes ácido valproico.

Al cumplir 60 días PN (o 39 en el AE), se inició con la exposición al laberinto radial, que permitió posteriormente la evaluación de la memoria de trabajo y la referencia, a diferencia del laberinto empleado originalmente por Olton y Papas (1979) con 17 brazos, en este trabajo se utiliza un laberinto de 9 brazos; los reforzadores fueron colocados en seis de los nueve brazos y la distribución de los brazos fue de la siguiente manera; dos con reforzador, uno sin reforzador, dos con reforzador, uno sin reforzador, dos con reforzador y uno sin reforzador, y se conservó este orden durante todas las sesiones del experimento, sin reemplazar a los reforzadores durante una misma sesión.

7.1 Primera etapa: Exposición al laberinto

La etapa experimental se realizó en tres etapas, siendo la primera la de exploración. Durante dicha etapa las ratas permanecieron 15 minutos en el laberinto con acceso

libre hacia los brazos (sin la colocación de reforzadores). La duración de esta fase fue de 15 días, el horario de la manipulación fue entre 10 am y 2pm, esto con el fin de que los sujetos se habituaran al laberinto.

7.2 Segunda etapa: Entrenamiento en el laberinto.

La segunda etapa fue la de entrenamiento, en donde las ratas tuvieron acceso libre únicamente a agua, la dieta se redujo en 80%, calculado a partir del promedio de consumo diario por grupo. En el laberinto radial se colocaron los reforzadores, respetando la distribución previamente descrita. Los pasos de esta etapa fueron las siguientes: Se colocó al animal en la plataforma central, impidiendo el acceso a los brazos durante 10 segundos, pasado este tiempo se les dio acceso libre a cualquier brazo, es decir, se permitió que la rata eligiera libremente qué brazo visitar para posteriormente, al regresar a la plataforma central, pudiera permanecer nuevamente durante 10 segundos con las puertas cerradas. Cada visita a un brazo se consideró un ensayo. El término de la sesión se determinó cuando la rata había consumido los 6 reforzadores o bien pasados 15 minutos. La etapa de entrenamiento concluyó cuando el sujeto logró un criterio de aprendizaje (recoger los 6 reforzadores en un máximo de 7 ensayos, durante tres días continuos). Los criterios de término de sesión y criterio de aprendizaje son retomados del procedimiento que realiza Olton y Papas (1979).

En este estudio se utilizó el término de adquisición (para hacer referencia al aprendizaje), el cual fue definido de la siguiente manera: Cuando la información que había recibido el animal durante las diferentes sesiones, le era útil para responder adecuadamente a la demanda de la tarea, dentro del laberinto radial.

7.3 Tercera etapa: Evaluación.

En esta fase se realizó el mismo procedimiento que en la fase anterior, con una duración de 40 sesiones, se evaluaron la memoria de referencia y la memoria de trabajo en los dos grupos (control y experimental). La evaluación de las memorias se logró con las probabilidades de respuestas correctas para cada una de las memorias.

Se establece en este estudio que una rata ha establecido la estrategia para la memoria de referencia cuando el animal nunca visitaba los brazos del conjunto “sin reforzador”. Un error en la misma fue cuando existía entrada a un brazo sin reforzador. Mientras que, para memoria de trabajo, la adquisición de la estrategia se observó desde el primer ensayo, cuando la rata debía elegir un brazo del conjunto “con reforzador” y en los siguientes ensayos, en la misma sesión, la respuesta correcta era no elegir el brazo ya visitado sino otro brazo del conjunto “con reforzado”. Se consideró un error a cada entrada subsiguiente a un brazo del conjunto con reforzador donde ya se había consumido. Si algún sujeto no llegaba a consumir los 6 reforzadores durante la sesión, es decir, que haya realizado una cantidad menor de ensayos, dichos ensayos faltantes se consideraban errores.

8. Análisis de resultados

En relación a la adquisición de la estrategia para la memoria de referencia: La respuesta correcta fue considerada como el cociente del número de brazos elegidos con reforzador entre el número total de ensayos. Una respuesta correcta es visitar cualquier brazo del conjunto “con reforzador”. Un error en esta memoria es visitar un brazo del conjunto de los “sin reforzador”, siendo esta información constante durante todas las sesiones. La expresión de la fórmula que se empleo es:

Memoria de Referencia = Número de brazos elegidos con reforzador / número total de ensayos

Por otro lado para la evaluación de la memoria de trabajo se consideró el cociente de la diferencia del número de brazos con reforzador y el número de visitas en los brazos sin reforzador entre el número total de ensayos. Una respuesta correcta para la memoria de trabajo, es visitar un brazo del conjunto de brazos “con reforzador” que aún tenga el reforzador. La expresión de la fórmula que se empleo es:

Memoria de Trabajo= (Número de brazos con reforzador - Número de visitas en brazos sin reforzador) / número total de ensayos.

Las pruebas estadísticas utilizadas fueron: Prueba estadística no paramétrica Kruskal Wallis y el análisis U de Mann-Whitney para los diferentes parámetros registrados.

9. Resultados

Durante la fase de administración se observó muerte experimental en el grupo de AVP (una hembra gestante a los 5 días post-administración) y en 4 crías de dos camadas, mientras que para el grupo control se presenta la muerte de una cría. El número de crías por camada fue de 9 ± 3 .

9.1 Parámetros postnatales

La duración de la gestación fue de 21 ± 1 días para el grupo control y $22 \pm .5$ días para el grupo experimental, este retraso de 24 horas en el grupo experimental fue significativo estadísticamente (valor de $U= 6.000$, sig. <0.05).

Por otro lado, la apertura de ojos se observó en el día 16 ± 1 para el grupo EC, para el grupo EAVP y ACAVP, para ambos, se presenta en el día 18 ± 1 , mientras que para el grupo ACC se mostró en el día $15 + 1$. Se considera apertura total y no parcial, es decir, cuando se observaba los dos ojos abiertos.

9.2 Etapa de Entrenamiento en el laberinto radial.

Las ratas que formaron al grupo EC al inicio de la Etapa de Entrenamiento presentaban conducta de inmovilidad con algunos movimientos de vibras, así como conducta de rearing (cuando las ratas se levantaban apoyadas en sus dos patas traseras) para explorar las paredes y en algunas ocasiones se observaron micciones dentro de los brazos o en la plataforma central. En las primeras sesiones estas ratas agotaban los 15 minutos para recoger los seis reforzadores, o bien, no recogían todos debido a que cometían varios errores. En el transcurso de las siguientes sesiones lograban recoger todos los reforzadores, disminuyendo el número de errores, así como la duración de las

sesiones. Una vez que los sujetos habían aprendido el patrón de acomodo de los reforzadores estos redujeron el número de ensayos dentro de la sesión. El promedio del grupo en la Etapa de Entrenamiento fue de 27 sesiones (Figura 5). Los sujetos de este grupo no presentaban preferencia por visitar un brazo más que otro.

Las ratas del grupo EAVP, recorrían el laberinto con conductas y ejecuciones similares al EC, sin embargo la adquisición de la estrategia para las memorias requirió de un número mayor de sesiones. En promedio este grupo requirió de 40 sesiones para cumplir el criterio de aprendizaje (Figura 5). Tampoco existió la preferencia por visitar un brazo más que otro.

Por otro lado algunas de las ratas del grupo ACC, se desplazaban en el laberinto corriendo sin ninguna conducta de orientación durante las primeras sesiones, había presencia de conductas como, sap (stretched attend posture) no protegido, esto es cuando una rata se estiraba en toda su longitud y exploraba los brazos (olfateando), sin moverse del sitio; así como rearing e inmovilización. Estas ratas mostraron mayores dificultades para recoger los seis reforzadores dentro del límite de los 15 minutos. La duración promedio de la Etapa de evaluación en este grupo fue de 53 sesiones (Figura 5).

Mientras que los sujetos del grupo ACVPA desde el inicio de la Etapa mostraron conductas de inmovilización en la plataforma central o en cualquiera de los brazos, lo que disminuía su actividad en el laberinto y la cantidad de ensayos en la sesión, adicionalmente se observó presencia de rearing, sap no protegido y grooming (conducta que se relacionaba con movimientos de frotado de cabeza y cara con patas delanteras). Mientras que otras ratas se mostraron con gran actividad locomotora, entrando y saliendo a todos los brazos con latencias muy pequeñas, y con pocas pausas. Estas ratas podían incluso no adquirir los seis reforzadores dentro de los 15 minutos, sus ejecuciones consistían en cometer constantes errores, ya sea por entrar a brazos previamente visitados del conjunto “con reforzador” o entrar a los brazos del conjunto “sin reforzador”. Específicamente en cuatro sujetos se realizaron un máximo de 100 sesiones de la Etapa de Entrenamiento, debido a que nunca lograron cumplir el criterio de aprendizaje, manteniendo ejecuciones con varios errores; únicamente dos

de ellas lograron pasar a la etapa de evaluación (Figura 5). Las cuatro ratas que no pasaron a la etapa de evaluación, se mantuvieron con una gran cantidad de errores para los dos tipos de memoria e incluso continuaban agotando el tiempo sin lograr la adquisición de los reforzadores, toda esta conducta constante en las 100 sesiones. Por lo que este grupo no es analizado para la etapa de evaluación debido a que la mayoría de los integrantes no logra el criterio de aprendizaje.

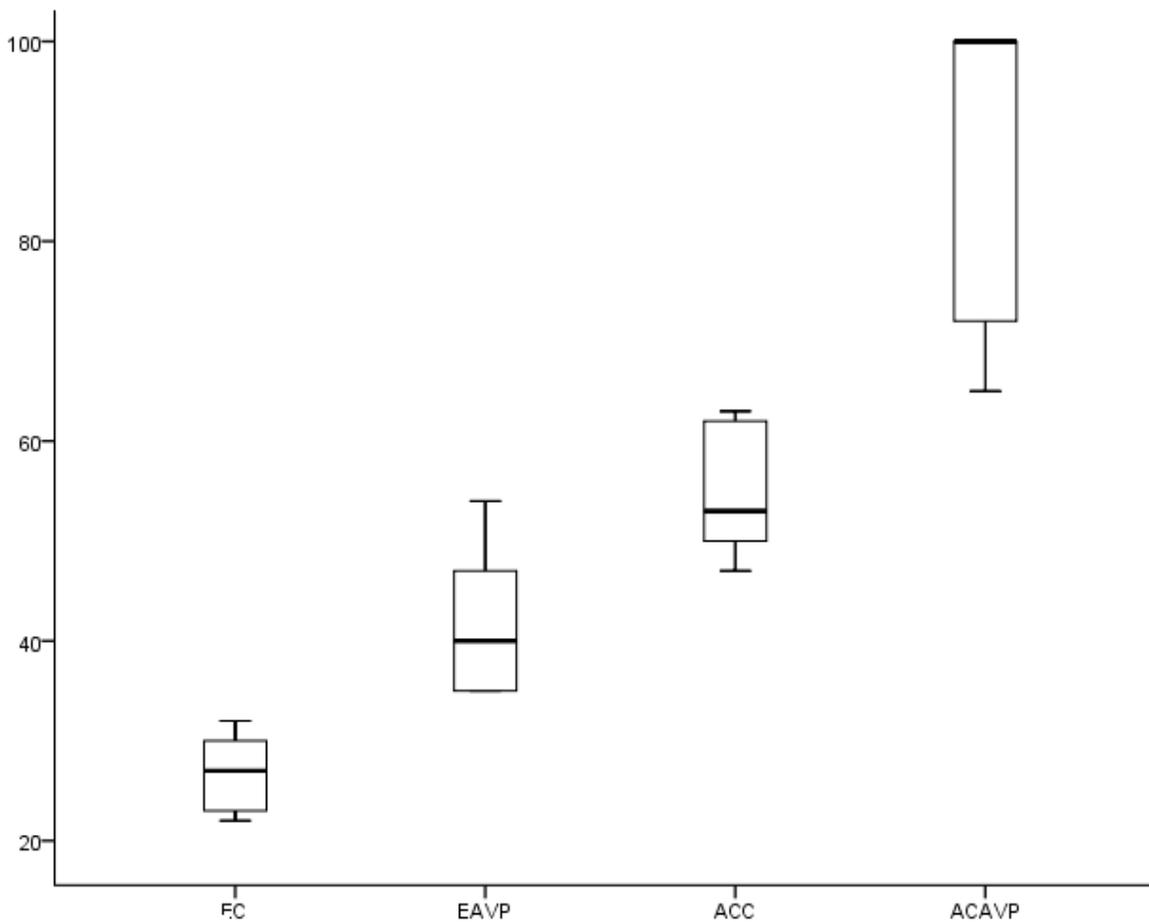


Figura 5. *Número de sesiones*. Se observa la distribución de los datos relacionados con el número de sesiones necesarias, por grupo, para el aprendizaje de la tarea en el laberinto radial. Para el grupo EC se observa que el 50% de los datos corresponden a 27 sesiones con valores máximos de 30 sesiones y valores mínimos de 22, mientras que el grupo EAVP se puede observar el 50% de los datos en 40 sesiones con valores máximos de 54 sesiones y valores mínimos de 35. Para el grupo ACC el 50% ronda en las 53 sesiones con valores máximos de 62 y valores mínimos de 47. Por último se puede

observar una gran dispersión de los datos para el grupo ACAVP, del 50% al 75% de la muestra está dentro de las 100 sesiones.

9.3 Etapa de Evaluación

Con el fin de evaluar la ejecución de la memoria de trabajo y la memoria de referencia entre el grupo control y el grupo al que se le administró prenatalmente AVP, se comparó el número de visitas a los brazos que realizó el animal en cada sesión, así como el tipo de brazo visitado, como parte del conjunto de los brazos “sin reforzador” o de los “con reforzador”. Adicionalmente se comparó la duración de las sesiones (tiempo de ejecución) de cada uno de los grupos. Tanto la duración de las sesiones como la evaluación de las habilidades cognitivas no se realizan en el grupo ACVPA debido a que cuatro de las ratas que conformaban este grupo no logran pasar a la etapa de evaluación, por lo cual no existe datos relacionados.

El tiempo de ejecución (latencia) se midió en minutos; se toma a partir del momento en el que se introduce al animal al centro de la plataforma y termina de recoger y consumir el último reforzador. En la mayoría de las sesiones de la Etapa de Evaluación las ratas que conformaban el grupo EC tardaban un par de minutos para recoger los seis reforzadores (ver Figura 6), cometiendo pocos errores. Durante las primeras sesiones hacían pausas, y una vez que elegían un brazo corrían hasta el final de éste para tomar el reforzador. Al llegar al final del brazo consumían el reforzador y realizaban otra pequeña pausa para después regresar a la plataforma central.

Mientras que las ratas del grupo EAVP al inicio de la etapa corrían hasta el final del brazo disminuyendo en algunas ocasiones los tiempos en comparación a las del grupo EC (ver Figura 6), sin embargo en sesiones siguientes permanecían más tiempo dentro de los brazos, incluso aunque ya no había reforzador que consumir, lo anterior debido a que realizaban en algunas ocasiones conductas de grooming.

Por otro lado el tiempo de ejecución del grupo ACC era mayor, como se puede observar en la Figura 6, en relación a los otros dos grupos. Estas ratas durante las sesiones hacían pausas prolongadas para elegir algún brazo o salir del mismo, en ciertas sesiones, incluso, dormitaban dentro de los brazos.

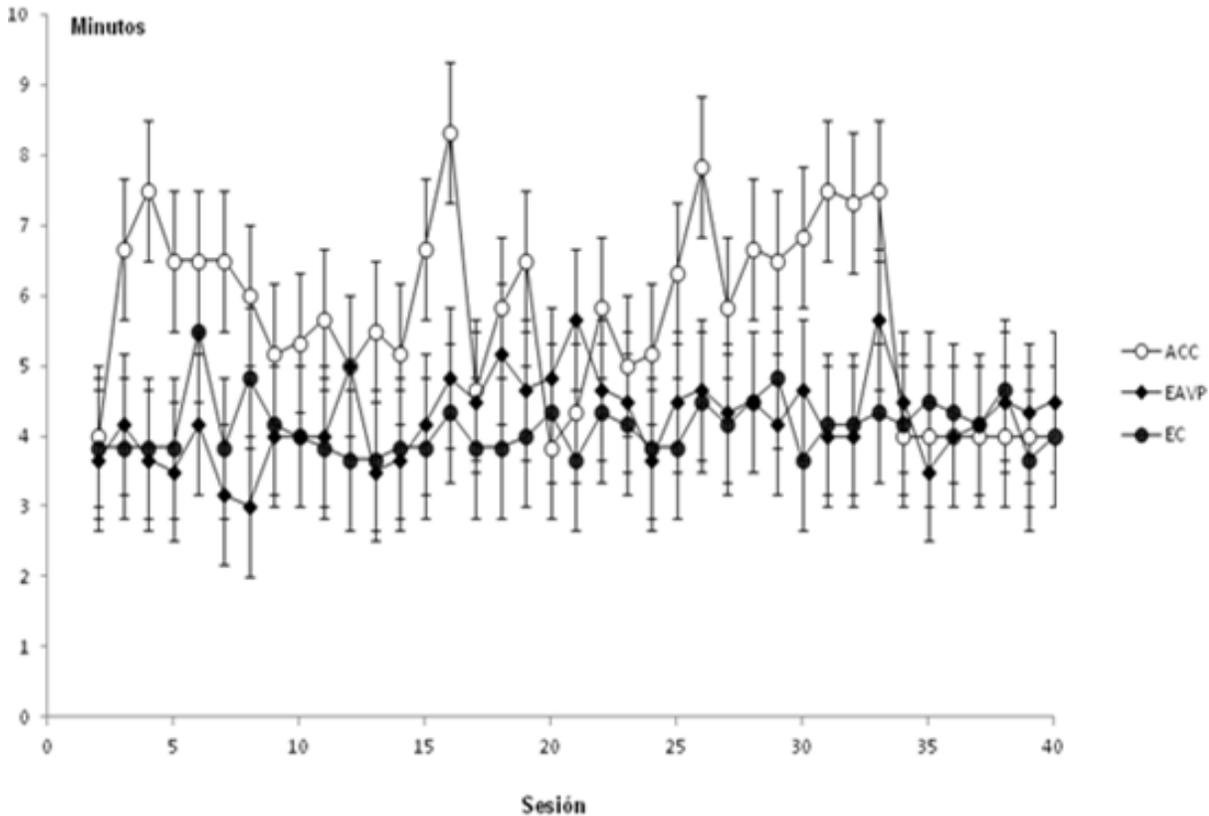


Figura 6. *Tiempos de ejecución.* Se muestra el promedio por sesión que requiriendo los grupos ACC, EAVP Y EC para concluir (recolectar todo los reforzadores) la tarea, en cada una de las 40 sesiones de la Etapa de Evaluación. \pm *Error Estándar.* Se observa mayor estabilidad en los tiempos requeridos para el grupo EC, con una \bar{x} de 4.1 minutos \pm .18, mientras que, para el grupo EAVP la \bar{x} es de 4.2 minutos \pm .30; para ambos grupos no se muestran grandes variaciones de una sesión a otra. Por último para el grupo ACC la \bar{x} de tiempos de ejecución es de 6.2 minutos \pm 1.3, mostrándose una mayor inestabilidad de tiempos de una sesión a otra.

Se encontraron diferencias significativas (Chi-cuadrado= 11.506, $p < 0.05$) en las latencias entre los 3 grupos al usar la prueba estadística de Kruskal Wallis. Para mostrar entre qué grupos se encuentran las diferencias, se realizó el análisis U de Mann-Whitney, en el cual se compararon dos grupos y se realizó todas las

combinaciones posibles. Éste análisis indica que al comparar el tiempo de ejecución de los grupos EC vs EAVP, no existen diferencias significativas (valor de $U= 10. 500$, sig.>0.05). Lo que indicaría que estos dos grupos tienen tiempos similares para la ejecución de la tarea.

En relación a los grupos EC vs ACC se obtuvieron diferencias significativas (valor de $U= 1.000$, sig. <0.05). De igual forma al compararse los grupos EAVP vs ACC (valor de $U= .000$, sig. <0.05) Lo que muestra que el grupo con mayor tiempo requerido para la ejecución de la tarea es el grupo ACC.

Una vez que las ratas de los distintos ambientes habían adquirido la estrategia para los dos tipos de memoria, esto era, cuando se cumplía el criterio de aprendizaje (3 sesiones consecutivas con un máximo de ensayos por sesión de 7) se inició la Etapa de Evaluación. Los índices para memoria de trabajo y memoria de referencia de las ratas que forman los distintos ambientes variaron (ver Tabla 7).

Grupos	N	MT (\bar{x})	MR (\bar{x})
EC	6	.90 ± .05	.96 ± .03
EAVP	6	.78 ± .03	.90 ± .02
ACC	6	.62 ± .14	.85 ± .04

Tabla 7. *Media de índice de respuestas correctas.* \bar{X} de respuestas correctas de las ratas (N=6) que conforman los distintos ambientes, datos que corresponden a las 40 sesiones en las que fueron evaluados los dos tipos de memoria. MT= memoria de trabajo, MR= memoria de referencia.

Se realizó un Kruskal Wallis, para comparar el índice de respuesta correcta durante las 40 sesiones de la Etapa de Evaluación, entre los grupos EC, EAVP Y ACC. El análisis reveló diferencias significativas en la ejecución de los grupos en la memoria de trabajo (Chi-cuadrado= 11.380, $p<0.05$). Lo que indica que el promedio del índice de respuestas correctas del grupo EC al encontrarse cercano a 1(valor máximo), este grupo realizó menos errores que lo grupos EAVP y ACC, en relación a la memoria de trabajo (Figura 7).

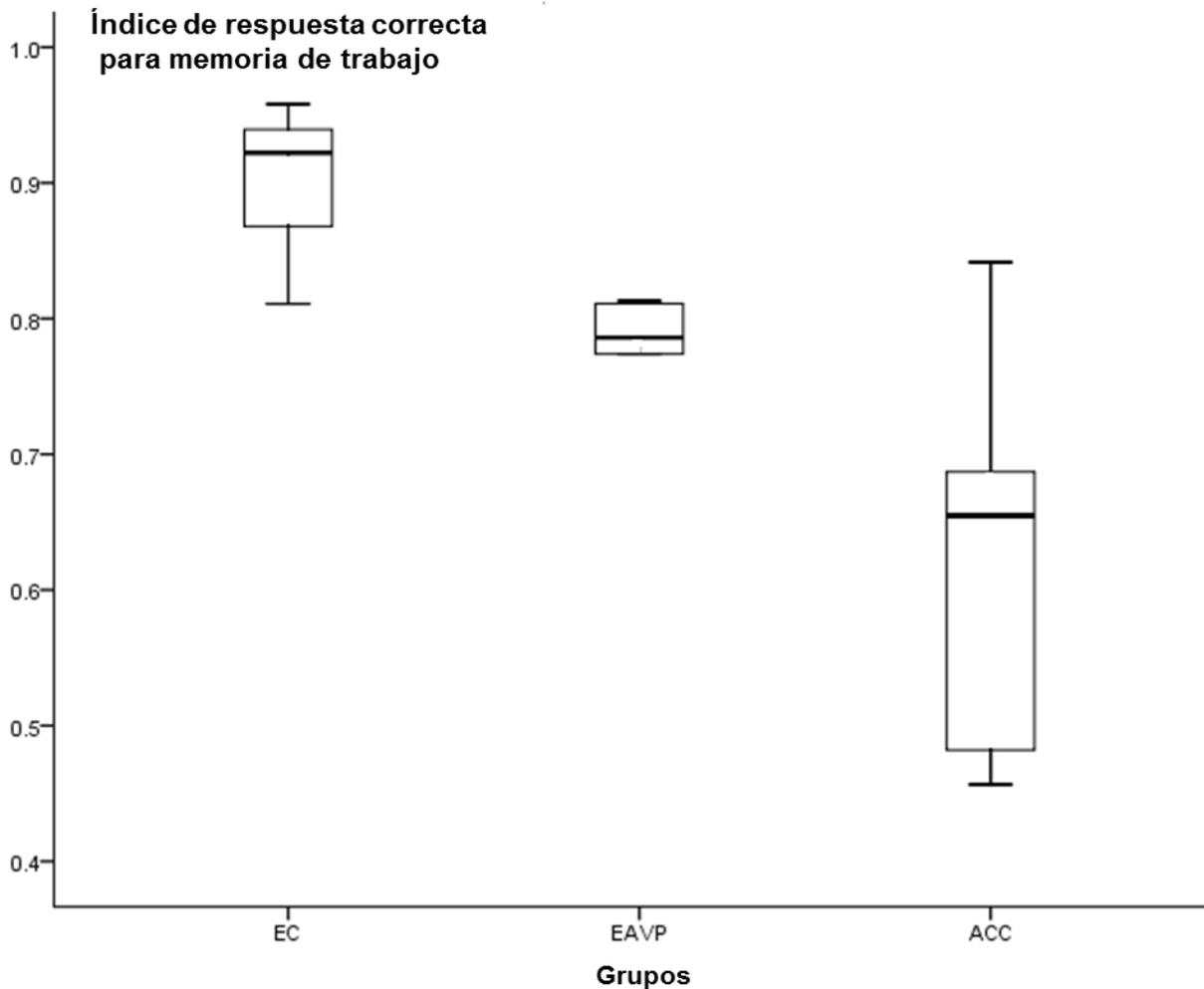


Figura 7. *Índice de memoria de trabajo*. El promedio del índice de respuestas correctas para los grupos EC, EAVP Y ACC en las 40 sesiones de la etapa de evaluación. Un rango de 1 indica la ausencia de errores en la tarea de memoria de trabajo, conforme se alejan los valores a 1 refleja los errores que fueron cometidos por los sujetos que conformaban los diferentes grupos. Para el EC se aprecia que el 50% de los datos se encuentran en un índice de .93 con valores máximos de .95 y valores mínimos de .81. Para el grupo EAVP se muestra el 50% de los datos en .78 con valores máximos de .81 y valores mínimos de .77, por último para el grupo ACC se observa mayor dispersión en los datos, el 50% de los datos corresponden a un índice de .67 con valores máximos de .85 y valores mínimos de .45.

En relación a la memoria de referencia, así como la memoria de trabajo, el grupo EC presentó menos errores que los otros grupos (Tabla 7). Con el análisis de Kruskal Wallis se comparó el índice de respuestas correctas para esta memoria. El análisis estadístico mostró diferencias en la ejecución de los grupos en la memoria de

referencia ($\text{Chi-cuadrado}=11.275$, $p<0.05$). Lo que indica que el grupo EC, realizó mejor ejecución con un número menor de errores que los otros grupos (Figura 8).

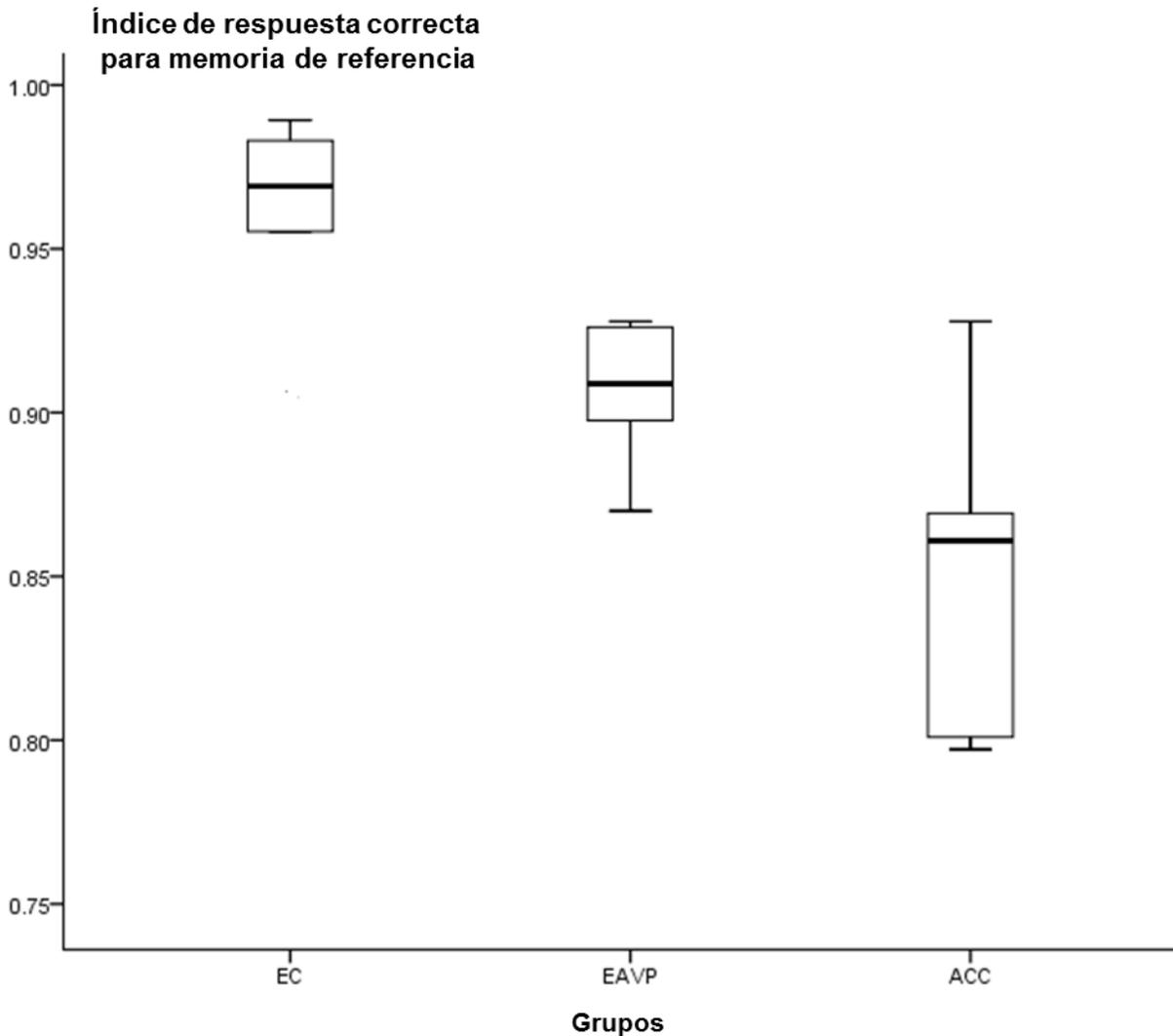


Figura 8. *Índice de memoria de referencia*. El promedio del índice de respuestas correctas para los grupos EC, EAVP Y ACC en las 40 sesiones de la etapa de evaluación. Se observa en el grupo EC que el 50% de los datos corresponden a un índice de .97 con valores máximo de .98 y valores mínimos de .96. Mientras que para el grupo EAVP el 50% de los datos se encuentran en un índice de .91 con valores máximo de .94 y valores mínimos de .88. Por último para el grupo ACC el 50% se muestra en .87, valores máximos de .94 y valores mínimos de .80.

9.4 Ambientes (enriquecidos y estándar)

Con el fin de analizar si los distintos ambientes que se utilizaron influyeron para la mejora en las ejecuciones de memoria de trabajo se realizó el estadístico U de Mann-Whitney. El análisis estadístico mostró diferencias en la ejecución de la memoria de trabajo, entre los grupos de ambientes EC y EVPA (valor de $U = 2.00$, $p < 0.05$), de igual forma se encuentran diferencias al comparar el grupo EC frente al ACC (valor de $U = 1.00$, $p < 0.01$). Lo que indica que para el grupo EC las ejecuciones para la memoria de trabajo son diferentes, con una relación menor de errores que los otros dos grupos. Mientras que al ser comparado el grupo EAVP y ACC, no existieron diferencias significativas en la ejecución de los dos grupos (valor de $U = 6.00$, $p > 0.05$).

En el análisis correspondiente a diferencias entre dos ambientes en relación a la memoria de referencia. La prueba estadística de U de Mann-Whitney mostró que existe diferencias significativas cuando se realizan las diferentes combinaciones, es decir, cuando se compara a EC vs EAVP (valor de $U = 2.00$, $p < 0.05$), EC vs ACC (valor de $U = 1.00$, $p < 0.05$) y EAVP vs ACC (valor de $U = 5.00$, $p < 0.05$). Lo cual muestra que el grupo EC mostró un índice de memoria de referencia estadísticamente mayor a los otros grupos. Mientras que, para los grupos EAVP vs ACC, muestra que el grupo EAVP realizó menos errores que el grupo ACC, ya que el índice de respuestas correctas en la memoria de referencia para el grupo EAVP es más cercano a uno que el del grupo ACC (Figura 8).

10. Discusión

Las principales mediciones en el presente estudio fueron: a) Apertura de ojos como un marcador de desarrollo, así como una estimación de nacimiento; b) la adquisición (aprendizaje) y el establecimiento (memoria) de una tarea realizadas en el laberinto radial de nueve brazos y, c) el efecto postnatal (día 21) a diferentes ambientes sobre los procesos de aprendizaje y memoria y el tiempo de ejecución para realizar la tarea en el laberinto. Los resultados indican que una sola exposición prenatal en el día 10 de

gestación de AVP (600 mg/kg) generó cambios significativos en los eventos mencionados.

10.1 parámetros postnatales

Como se describió en los resultados las ratas del grupo control mostraron la apertura de ojos antes que las del grupo experimental, lo cual sugiere una posible alteración ocasionada por el AVP en la maduración de los mecanismos que regulan este fenómeno. En un estudio en el cual se utiliza este modelo se reportó de igual forma que existen diferencias en la apertura de ojos en los grupos en el que se administró prenatalmente AVP indicándolo como un marcador de desarrollo que se encuentra alterado. Adicionalmente otros indicadores que reportan alteraciones son; menor peso corporal, retraso en el desarrollo motor y la desintegración de una serie coordinada de reflejos (Schneider & Przewlocki, 2005). En relación al peso corporal en este estudio no se encuentran diferencias significativas, posiblemente porque a diferencia del estudio realizado por Schneider & Przewlocki la medición se realizó en el día 7 postnatal y en este trabajo en el día 21 después del destete.

Por otro lado, en relación a la estimación de nacimiento de igual forma se encontró que los días en los cuales nacen las ratas del grupo control vs el grupo experimental muestran diferencias significativas. Se describe en la literatura que los días en los cuales se realiza el término de la gestación es a los 21 días, al tomar este referente, se destaca en los grupos control que el nacimiento de las crías se logra dentro de este margen, mientras que para el grupo experimental existe un retraso de 24 hrs. Se menciona que los retrasos, incluso ligeros, del parto en ratas pueden estar asociados con el aumento significativo en el número de mortinatos (Hudson, Cruz, Lucio, Ninomiya, & Martínez-Gómez, 1999). En este trabajo se presentó la muerte de 4 crías de ratas tratadas con AVP las cuales requirieron más días para nacer.

10.2 Habilidad cognitiva: Aprendizaje

A través de la evaluación de habilidades cognitivas a través de laberintos, se ha mostrado que en el proceso de aprendizaje en ratas expuestas al fármaco AVP muestra alteraciones (Narita et al., 2010; Wagner et al., 2006; Zhang et al., 2003). Los resultados en este trabajo son consistentes a los estudios previos ya que se observó que la capacidad de los sujetos experimentales para adquirir la tarea en el laberinto de nueve brazos se vio modificada. El déficit de aprendizaje fue predominante en el grupo del ACAVP en el cual, no bastaron 100 sesiones para que se lograra la adquisición de la tarea, observándose una constante de errores en sus ejecuciones. Mientras que en el otro grupo en el que también se administra AVP (EAVP) los sujetos logran la adquisición de la tarea, sin embargo realizan un mayor número de sesiones, que el grupo control EC, por lo que los procesos de aprendizaje en estas ratas requieren de mayores ejecuciones, lo que indica un retraso para la consolidación de la tarea. Un estudio previo en ratas ha demostrado que uno de los posibles mecanismos involucrados en las alteraciones de aprendizaje en este modelo está relacionado con la reducción significativamente en las amplitudes de LTP (potenciación a largo plazo) y LTD (depresión a largo plazo) en la región CA1 del hipocampo, los cuales son importantes mecanismo celulares para el aprendizaje y la memoria (Zhang et al., 2003). La inducción de LTP y LTD es dependiente del receptor NMDA (Malenka, 1994). En trabajos previos, donde se administra prenatalmente AVP, se reporta la reducción de la respuestas mediadas por el receptor NMDA, medidos en cortes del hipocampo de ratas con 22 a 28 días de edad, dicha reducción contribuye a la alteración de la LTP y LTD, generando un deterioro en el funcionamiento sináptico del hipocampo, traduciéndose en los déficits de aprendizaje reportados en el modelo (Zhang et al., 2003)

10.3 Habilidades cognitivas: Memoria de trabajo y Memoria de referencia

Mientras que el proceso de memoria de referencia; se encontró que para las opciones correctas y las opciones incorrectas establecidas para la evaluación de ésta, se muestran diferencias significativas. El grupo EC muestra la mejor ejecución con puntajes altos en esta memoria, el ambiente EAVP muestra una media de respuestas correctas por debajo del grupo EC con diferencias estadísticamente significativas.

Mientras que el grupo ACAVP es el grupo con la media de ejecución más baja, ya que no redujo el número de errores, y, nunca logró cumplir el criterio de aprendizaje, adicionalmente se observó que en este grupo de ratas había una entrada constante a los brazos del conjunto “sin reforzador” en todas las sesiones que se realizaron. Por lo que el proceso de memoria espacial para los grupos de ratas que fueron expuestas prenatalmente a AVP se ve modificado cuando estas se comparan con ratas control.

Se ha descrito que la memoria espacial o de referencia demanda ser una memoria cuya base anatómica se puede relacionar con el hipocampo, ya que éste codifica las pistas del medio y al mismo tiempo la posición de la rata en el espacio; las asocia de todos los estímulos entre sí para constituir una representación del espacio y se ha mencionado que una vez que se realiza lo anterior se da una respuesta (elección para visitar un brazo) de acuerdo a las pistas del medio y a la posición de la rata. Estos elementos deben ser adquiridos y recordados respecto a los otros y relacionarlos al encuadre de referencia (Tversky, 2000). Las alteraciones en este tipo de memoria podrían estar relacionadas con las modificaciones en la organización del hipocampo, así como a las alteración en la eficacia sináptica (Frisch et al., 2009; Zhang et al., 2003). Se ha demostrado que las lesiones del hipocampo dorsal y el fornix, es decir regiones más específicas de la región temporal medial, son las que se encuentran relacionadas con las alteraciones para la adquisición de la memoria de referencia (Galani et al., 2002). Sin embargo no sólo el hipocampo se ha descrito como la región para el procesamiento de la memoria espacial, se sugiere que la corteza cerebral también se encuentra a cargo de esta habilidad cognitiva, ya que ésta es el almacén de la memoria a largo plazo (Squire, 1992). Posiblemente en el grupo de ratas EAVP y ACAVP se vieron modificadas estas regiones cerebrales en diferentes proporciones y grados debido a la administración prenatal de AVP, ya que dichas regiones se han reportado dañadas por la administración prenatal de este fármaco (Umka et al., 2010; Rinaldi, Perrodin & Markram, 2008). Lo que podría estar relacionadas no solo con las alteraciones en memoria de referencia sino que incluso puede estar relacionada con los déficits en memoria de trabajo.

Con respecto al proceso de memoria de trabajo, la cual fue descrita como la situación en la que el animal requiere retener información entre algunos ensayos durante la misma sesión, se observó diferencias significancia entre los grupos. Las ejecuciones para el grupo EC, son cercanas al índice máximo, con errores mínimo y una constancia de la ejecución durante las 40 sesiones; mientras que el promedio de las sesiones de la Etapa de Evaluación del grupo EAVP, se encuentra por abajo del grupo EC, marcando una diferencia entre grupos en relación a la ejecución de la estrategia para memoria de trabajo, una de las posibles explicaciones a este déficit encontrado podría estar relacionado con lo propuesto por Olton & Papas (1979) quienes mencionan que el hipocampo es esencial para el funcionamiento adecuado de la memoria de trabajo, ellos demuestran que lesiones en esta área deterioraba la memoria de trabajo de ratas, medido a través de un laberinto radial.

Como se ha descrito la actividad de estos dos tipos de memoria podría estar relacionada con la región hipocampal (Yamada, Shimizu, Kawabe & Ichitani, 2015) cuando esta área se ve afectada, algunos de los efectos descritos incluyen déficits en aprendizaje y procesos de memoria de trabajo y memoria de referencia, sin embargo en otro estudio se ha reportado diferentes resultados sobre los sustratos biológicos que subyacen a estos procesos. Se reporta un deterioro de la memoria de trabajo selectivo después del daño del hipocampo pero no un deterioro en la memoria de referencia Olton & Papas (1979), ya que esta última podría estar a cargo no solo del hipocampo sino también de la corteza cerebral siendo esta región el almacén de la memoria a largo plazo (Squire, 1992). Por lo que el sustrato biológico de estas dos tipos de memoria podría ser distintos, en donde la participación de otras regiones pueden estar involucradas en un proceso más que en otro.

10.4 Condiciones ambientales

En relación al efecto de los diferentes ambientes en las habilidades cognitivas alteradas por la administración prenatal de AVP, se encuentra que estos influyeron en la adquisición y en el establecimiento para la memoria de trabajo (Cotel, Jawhar, Cristensen, Bayer & Wirths, 2012) y la memoria de referencia (Williams et al., 2001)

Se ha demostrado que el AE mejora la memoria cuando es evaluada en ratas mediante la tarea de reconocimiento de objetos (Escorihuela & Tobena, 1995). Específicamente se ha reportado que las tareas visoespaciales hipocampo-dependientes, resultan ser las más beneficiadas por el AE, ya que se han observado fenómenos de plasticidad neuronal en el hipocampo con un mayor número de dendritas por neurona en el giro dentado en comparación con animales control (Juraska, Fitch, Henderson, & Rivers, 1985; Schaefers, 2015). Así mismo se señala que el AE mejora el rendimiento en tareas que requieren aprendizaje espacial como en el laberinto radial (Juraska et al., 1985) o el laberinto acuático de Morris (Escorihuela & Tobena, 1995).

En relación al tiempo de exposición a los distintos ambientes correspondieron al día 21 postnatal (después del destete) y se continuó hasta el final del experimento, con la finalidad de proporcionar la mayor estimulación desde edades tempranas. Lo anterior fue establecido en base a que se ha demostrado que para que pueda reflejarse la experiencia de enriquecimiento en la conducta con diferencias más pronunciadas se debe administrar en los días 22 al 43, siendo la memoria de trabajo una de las habilidades cognitivas con efectos más significativos (Diamond, 1988).

El impacto de los ambientes para el grupo EC se mostró en las ejecuciones de la memoria de referencia, al compararse con los grupos ACC y EAVP. Se demuestra que al emplearse condiciones enriquecidas se observaron modificaciones en la ejecución de tareas relacionadas con memoria espacial, una posible explicación podría estar encaminada a los hallazgos reportados de los ambientes complejos, los cuales se describe que estos proveen mayores oportunidades en habilidades cognitivas debido a la estimulación social y somatosensorial (Schaefers, 2015), debido a que la novedad que se consigue con los objetos proporcionan a los sujetos la formación de mapas cognitivos (O'Keefe & Nadel, 1978).

Al mostrarse en este estudio que la administración prenatal de AVP afecta a los procesos de memoria en las ratas, se encuentra que específicamente el grupo de EAVP se observó significativamente menor en el rendimiento de la tarea cuando se comparó las ejecuciones con el grupo EC, sin embargo al ser contrastado el grupo EAVP con el grupo ACC (el cual no fue sometido a ninguna condición experimental) los

resultados muestran diferencias significativas, siendo EAVP el grupo en el que se observó ejecuciones con un número menor de errores para la estrategias en memoria de referencia, por lo que el grupo EAVP al recibir una condición enriquecida logró mejorar las habilidades cognitivas pese a que incluso existiera un agente durante el desarrollo de estas ratas que pudiera haber alterado la formación adecuada de estructuras corticales y subcorticales.

Con respecto a la memoria de trabajo, en nuestros grupos la condición EC resultó con el menor número de errores para la memoria de trabajo, sus ejecuciones eran muy cercanas al índice máximo establecido, y al ser comparado con el grupo ACC, se mostró un mayor rendimiento en la ejecuciones para la estrategia de memoria de trabajo en el grupo EC, lo cual indica que la exposición a un ambiente enriquecido produce mejoras en las habilidades cognitivas de las ratas, ya que el rendimiento del grupo ACC estuvo acompañado de un mayor número de errores.

Por otro lado al contrastar el grupo EC vs EAVP, en donde el segundo grupo pasa por una condición experimental, las diferencias en este tipo de memoria son muy significativas, siendo mayor la ejecución del primer grupo. Sin embargo al comparar las ejecuciones de los grupos ACC vs EAVP no existen diferencias estadísticas, lo cual indica que para ambas condiciones las estrategias para la memoria de trabajo son similares. Estos resultados estarían marcando los posibles efectos beneficiosos del AE en las funciones cognitivas del grupo EAVP.

El cuarto grupo de este estudio el ACAVP, al que se le administró de igual forma AVP, se mostró alteraciones importantes en el aprendizaje y en memoria, en este último proceso cognitivo se observaron constantes errores, sin el claro establecimiento para la estrategia de memoria de trabajo como de memoria de referencias. Este grupo al vivir en condiciones empobrecidas, posiblemente no existieron factores ambientales (como en el caso del EAVP) que permitieran la reorganización de su SNC, es decir, procesos plásticos para responder de forma adecuada a los defectos causados por el AVP.

Las diferencias obtenidas en las distintas condiciones ambientales podrían estar relacionadas al aumento de LTP, debido al impacto del AE. El LTP se ha asociado a la formación de memoria a través de los receptores NMDA (Artola et al., 2006) e incremento de la expresión de varios genes relacionados con la función del receptor NMDA asociado a procesos de neurogénesis y de aprendizaje (Rampon et al., 2000). Por ejemplo, en un estudio que busca el impacto del AE sobre la memoria, se reporta niveles altos de expresión de la densidad postsináptica 95 (PSD-95), la cual participa en el anclaje del receptor a NMDA e interactúa con el óxido nítrico sintasa (ON) en la membrana postsináptica, jugando un importante papel en la transmisión sináptica y en la formación de memoria (Christopherson et al., 1999).

Con respecto al enriquecimiento con pares se ha descrito que incrementaba los niveles de los receptores de glutamato GluR2 y GluR4 en el hipocampo de ratones, haciendo más eficiente la neurotransmisión glutamatérgica (Naka et al., 2005) y aumentando los niveles de glutamato en la corteza entorrinal de animales enriquecidos en comparación con los animales aislados (Myhrer et al., 1992). También se ha observado que el aislamiento ambiental disminuye la función de los receptores glutamatérgicos en la corteza prefrontal (Melendez et al., 2004). Estos cambios son consistentes con las alteraciones en la expresión de genes relacionados con la función sináptica y la plasticidad celular, ya que el AE también induce modificaciones en la expresión de las subunidades de los receptores NMDA y AMPA, fortaleciendo la sinapsis e induciendo formas específicas de plasticidad (Green & Greenough, 1986). Tomando de base lo anterior, posiblemente para los grupos estándar, sus alteraciones podrían estar relacionadas tanto por la administración del fármaco y la poca estimulación que estos recibieron, ya que para los grupos que sí recibieron el AE el impacto se observó en la modificación de las estrategias para las memorias y aprendizaje. Sin embargo aún queda por entender qué podría estar sucediendo en relación a las diferencias significativas encontradas, en la memoria de referencias de las ratas pertenecientes al grupo EAVP vs ACC en contraste a las ejecuciones similares en la memoria de trabajo para estos mismos grupos.

Estas diferencias encontradas podrían estar relacionadas con los diversos sustratos que subyacen a cada una de estas memorias. Como se ha mencionado, una de las estructuras cerebrales que se encuentra alterada por la administración prenatal de AVP es el hipocampo, no siendo ésta la única ya que también se ha demostrado que se afecta la red de la corteza cerebral (Rinaldi, Perrodin & Markram, 2008). Por lo que se esperaría un deterioro más pronunciado en relación a la memoria de referencia, debido a que ésta hace uso de redes de la corteza cerebral, así como el hipocampo como estructuras que permiten el funcionamiento adecuado de este proceso. Sin embargo la influencia del ambiente es el que posiblemente este marcando las diferencias observadas, ya que los principales cambios biológicos causados por el enriquecimiento en la rata han sido el incremento del peso y volumen cortical de hasta el 5% (Rosenzweig et al, 1962) Este efecto se ha reportado especialmente en la corteza visual, somatosensorial y frontal posterior. Por lo que el empleo de AE genera modificaciones en las estructuras subcorticales (hipocampo) y en la corteza cerebral, lo cual podrían estar minorando las alteraciones producto de la administración de AVP, sustentando la mejoría en la ejecución para la estrategia de la memoria de referencia y no tanto en la memoria de trabajo.

10.5 Componentes conductuales

Por último se realizó la observación de componentes conductuales de los grupos de ratas expuestas a los diferentes tipos de ambientes. Se observó que los sujetos del grupo EC realizaban conductas de orientación para explorar el medio, haciendo pausas, así como conductas de rearing con movimiento de las vibrisas, adicionalmente algunas giraban sobre su propio eje antes de elegir un brazo para visitarlo, así mismo resultó ser el grupo de ratas que permaneció menos tiempo en los brazos. Se ha reportado que este tipo de conductas corresponden a los efectos del AE el cual aumenta la conducta exploratoria, evaluada mediante la tabla de agujeros, cuando se compara con animales que viven aislados (Escorihuela, 1994). En otro estudio que realiza Zhu et al., (2006) muestran que ratones expuestos a medios enriquecidos realizan menos entradas y permanecieron menos tiempo en los brazos abiertos del

laberinto elevado comparados con los control, lo cual mencionan los autores son signos de una disminución en los niveles de ansiedad; caso contrario es lo que se reporta en las condiciones estándar o empobrecidas, en donde se menciona que la actividad locomotora ante una situación de novedad se ve aumentada cuando se compara con grupos de ratas enriquecidas (Bowling et al., 1993) lo cual fue observado en algunos de los sujetos que conformaban los grupos ACC Y ACAVP.

11. Conclusiones

- En el presente estudio se muestra que la exposición prenatal a AVP modifica el rendimiento de las ratas en una tarea con requerimientos de aprendizaje y memoria (trabajo y referencia).
- Por otro lado se encuentra que al enriquecer el ambiente de las ratas expuestas prenatalmente a AVP se favorecen los procesos cognitivos que pudieron verse afectados por dicho fármaco.

12. Limitaciones

Los resultados de este estudio deben tomarse con cautela ya que demanda mayor control de parámetros como el cronometrado de la gestación, a través de técnicas como el frotis vaginal, que permita la adecuada administración del AVP en la ventana de tiempo donde se realiza la neurulación, y de esta forma obtener mayor certeza que las modificaciones que se han podido observar estén relacionados con una modificación de esta etapa del desarrollo. Así mismo, otras consideraciones relevantes están relacionadas con el desarrollo postnatal que pueden ser abordadas con la evaluación de otros marcadores biológicos del desarrollo, además de la apertura de ojos, como sería: el crecimiento de vibrisas, la formación del canal auditivo, entre otros. Ya que se ha reportado que una de las características presentes en este modelo es la aparición de retraso en el desarrollo (Källén, 2004; Schneider & Przewłocki, 2005).

En este estudio se describió que la latencia para ejecutar la tarea en el laberinto radial, en el grupo de ratas expuestas prenatalmente a AVP se encuentra aumentada, es decir que requieren mayor tiempo para realizar la tarea. Sin embargo se debe de tomar en cuenta que existen otras alteraciones, previamente reportadas en la literatura, que puedan explicar estos resultados. Se ha descrito que en este modelo animal existen alteraciones en la actividad motora, descritas como una modificación en las series motoras coordinadas (Schneider & Przewlocki, 2005) que pudiera estar interviniendo en la velocidad para realizar la tarea dentro del laberinto radial, por lo cual se propone la evaluación de la actividad motora para establecer si las alteraciones reportadas en la latencia están relacionadas con fallas en la velocidad de procesamiento o por las alteraciones en la motricidad.

Por otro lado los datos que se encuentran sobre la memoria de trabajo, invitan a futuras investigaciones a profundizar en el estudio a través del empleo de diferentes instrumentos o métodos con mayor sensibilidad, por ejemplo el procedimiento de reconocimiento de objetos (Umka et al., 2010). De tal forma se logre una mayor especificación sobre las alteraciones de este proceso cognitivo.

Por último, el análisis de cortes cerebrales podrá establecer los correlatos anatómicos que pudieran estarse afectando tanto en los procesos de memoria de trabajo (ya que no se ha indagado sobre éste y sí sobre memoria espacial y aprendizaje) como por el uso de ambientes enriquecidos.

12. Referencias

Adab, N., Jacoby, A., Smith, D., & Chadwick, D. (2001). Additional educational needs in children born to mothers with epilepsy. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 70(1), 15–21.

Adab, N., Kini, U., Vinten, J., Ayres, J., Baker, G., Clayton-Smith, J., Coyle, H., Fryer, A., Gorry, J., Gregg, J., Mawer, G., Nicolaides, P., Pickering, L., Tunnicliffe, L. & Chadwick, D. W. (2004). The longer term outcome of children born to mothers with epilepsy. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 75(11), 1575–1583.

Anderson J. R. (1995). Perspectives on learning and memory. En: *Learning and memory*. Editado por: J. R. Anderson. Pp. 4-5.

Arding, H., Arkin, J., & Blackston R. (1988). Verification of the fetal valproate syndrome phenotype. *American Journal Medical Genetics*, 29(1): 171 185.

Arpino, C., Brescianini, S., Robert, E., Castilla, E., Cocchi, G., Cornel, M., de Vigan, C., Lancaster, P., Merlob, P., Sumiyoshi, Y., Zampino, G., Renzi, C., Rosano, A. & Mastroiacovo, P. (2000). Teratogenic effects of antiepileptic drugs: use of an International Database on Malformations and Drug Exposure (MADRE). *Epilepsia*, 41(11), 1436–1443.

Artama, M., Auvinen, A., Raudaskoski, T., Isojärvi, I., & Isojärvi, J. (2005). Antiepileptic drug use of women with epilepsy and congenital malformations in offspring. *Neurology*, 64(11):1874-8.

Atkinson, R. & Shiffrin R. (1968). Human memory: A proposed system and its control processes. En: *The psychology of learning and motivation*. Editado por: Spence, K. W. & Spence J. T. New York: Academic Press. 2: 85-195.

Baddeley A. (2000). Short-Term and Working Memory. En: *The Oxford Handbook of memory*. Editado por: E. Tulving & I. M. Craik. pp 77-82.

Baddeley A. & Hitch G. J. (1974). Working memory. En: *Recent advance in learning and motivation*. Editado por: G. W. Bower. New York: Academic Press. Vol. 8.

Barrett, C., & Richens, A. (2003). Epilepsy and pregnancy: Report of an Epilepsy Research Foundation Workshop. *Epilepsy Research*, 52(3), 147–187.

Bialer, M. (2012). Why are antiepileptic drugs used for nonepileptic conditions? *Epilepsia*, 53(7), 26–33.

Bower, G. H. (2000). A brief history of memory research. *The Oxford Handbook of Memory*. Retrieved from http://psiexp.ss.uci.edu/research/teachingP140C/Papers/Bower_2000.pdf

Bowling, S. L., & Bardo, M. T. (1994). Locomotor and rewarding effects of amphetamine in enriched, social, and isolate reared rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 48(2), 459–464.

- Brailowsky S. (2004). Plasticidad cerebral: de la ontogenia al medio ambiente. En Corsi C. M. *Aproximaciones de las neurociencias a la conducta*, pp.119-126. México: Manual Moderno.
- Brasted, P. J., Bussey, T. J., Murray, E. a., & Wise, S. P. (2003). Role of the hippocampal system in associative learning beyond the spatial domain. *Brain*, 126(5), 1202–1223.
- Bristot,S., Bambini-Junior, V., Galland, F., Daniele, B., Quincozes, S., Torres A., Zanotto, C., Batassini, C., Brolese, G., Goncalves, C., Riesgo, R. &Gottfried, C. (2013). Animal model of autism induced by prenatal exposure to valproate: Altered glutamate metabolism in the hippocampus. *Brain Research*, 1495, 52–60.
- Brown, R. (1968). Early experience and problem-solving ability. *Journal of comparative and Physiological Psychology*, 65:433-440
- Cabrera, F. (2009). Evaluando memoria de trabajo y de referencia en hámsteres dorados (*mesocricetus auratus*): una tarea de memoria espacial. *Revista Mexicana de Análisis de La Conducta*, 35(0), 117–132.
- Cassina, M., Dilaghi, A., Di Gianantonio, E., Cesari, E., De Santis, M., Mannaioni, G., Pistelli, A. & Clementi, M. (2013). Pregnancy outcome in women exposed to antiepileptic drugs: teratogenic role of maternal epilepsy and its pharmacologic treatment. *Reproductive Toxicology* (Elmsford, N.Y.), 39, 50–7.
- Cavada, C. (1985). Desarrollo del sistema nervioso central: En Segovia, S. y Guillamón, A. (Ed.) *Psicobiología del desarrollo* (pp.32-50). Barcelona, España: Editorial Ariel.
- COMISION DE MEDICAMENTOS CO.M.R.A. (2002). Ministerio de Salud de la Nación, Programa PROAPS Formulario Terapéutico CO.M.R.A. Fecha de consulta: 12 de mayo del 2015. URL: http://msalud.larioja.gov.ar/docs/folleto_formularios/FT_COMRA.pdf
- Cheaha, D., Bumrungsri, S., Chatpun, S., & Kumarnsit, E. (2015). Characterization of in utero valproic acid mouse model of autism by local field potential in the hippocampus and the olfactory bulb. *Neuroscience Research*,98, 28-34.
- Chen, P. S., Wang, C. C., Bortner, C. D., Peng, G. S., Wu, X., Pang, H., Lu, R., Gean, P., Chuang, D. & Hong, J. S. (2007). Valproic acid and other histone deacetylase inhibitors induce microglial apoptosis and attenuate lipopolysaccharide-induced dopaminergic neurotoxicity. *Neuroscience*, 149(1), 203–212.
- Chun, M., & Jiang, Y. (1998). Contextual Cueing: Implicit Learning and Memory of Visual Context Guides Spatial Attention. *Cognitive Psychology*,71(36), 28–71.
- Chun, M., & Jiang, Y. (2003). Implicit, long-term spatial contextual memory. *Journal of Experimental Psychology. Learning, Memory, and Cognition*, 29(2), 224–234.
- Clayton-Smith, J., & Donnai, D. (1995). Fetal valproate syndrome. *Journal of Medical Genetics*, 32(9), 724–727.

- Corneliu, N., Craciunescu, E., Brown, M., Craig, D., Albright, R., Zeisel, N., & Zeisel, S. H. (2004). Folic Acid Deficiency During Late Gestation Decreases Progenitor Cell Proliferation and Increases Apoptosis in Fetal Mouse Brain. *Nutritional Neurosciences*, 134(1), 2164–2170.
- Craciunescu, C., Brown, E., Mar, M., Albright, C., Nadeau, M., & Zeisel, S. (2004). Folic acid deficiency during late gestation decreases progenitor cell proliferation and increases apoptosis in fetal mouse brain. *The Journal of Nutrition*, 134(1), 162–166.
- Danielsson, B., Danielsson, C., & Nilsson, M. F. (2007). Embryonic cardiac arrhythmia and generation of reactive oxygen species: Common teratogenic mechanism for IKr blocking drugs. *Reproductive Toxicology*, 24(1), 42–56.
- Diamond, M. C. (2001). Response of the brain to enrichment. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 73(2), 210–220.
- DiLiberti, J., Farndon, P., Dennis, N., Curry, C., (1984). The fetal valproate syndrome. *American Journal of Medical Genetics*, 19(3), 473–481.
- Edalatmanesh, M., Nikfarjam, H., Vafaei, F. & Moghadas, M. (2013). Increased hippocampal cell density and enhanced spatial memory in the valproic acid rat model of autism. *Brain Research*, 1526, 15–25.
- Eichenbaum H. (2002). *The cognitive neuroscience of memory. An introduction.* Oxford, University Press. pp 139-170.
- Eriksson, K., Viinikainen, K., Mönkkönen, A., Äikiä, M., Nieminen, P., Heinonen, S., & Kälviäinen, R. (2005). Children exposed to valproate in utero - Population based evaluation of risks and confounding factors for long-term neurocognitive development. *Epilepsy Research*, 65(3), 189–200.
- Escorihuela R., Tobena A., & F.-T. A. (1995). Environmental Enrichment and postnatal Handling Prevent Spatial Learning Deficits in Aged Hypoemotional (Roman High-avoidance) and Hyperemotional (Roman Low-avoidance) rats. *Learning & Memory*, 2, 40–48.
- Etchepareborda, M. (2005). Memoria de trabajo en los procesos básicos del aprendizaje. *Revista de Neurología*, 40(Supl 1), 79–83.
- Faiella, A., Wernig, M., Consalez, G., Hostick, U., Hofmann, C., Hustert, E., Boncinelli, E., Balling, R. & Nadeau, J. (2000). A mouse model for valproate teratogenicity: parental effects, homeotic transformations, and altered HOX expression. *Human Molecular Genetics*, 9(2), 227–236.
- Finnell, R., Spiegelstein, O., Wlodarczyk, B., Triplett, A., Pogribny, I., James, S., & James, J. (2002). Proceedings of the Trans-HHS Workshop: diet, DNA methylation processes and health. *The Journal of Nutrition*, 132(8 Suppl), 2329S–2332S.
- Forgays D., & Reid J. (1962). Crucial periods for free-environmental experience in the rat. *Journal of comparative and Physiological Psychology*, 55: 816-818.
- Flórez, J. (2014). *Farmacología humana.* Barcelona, España: Elsevier Masson.

- Frías, J. & Barness, G. (2008). Human Teratogens current controversies. *Advances in Pediatrics*, 55 (2), 171-211.
- Frisch, C., Hüsch, K., Angenstein, F., Kudin, A., Kunz, W., Elger, C., & Helmstaedter, C. (2009). Dose-dependent memory effects and cerebral volume changes after in utero exposure to valproate in the rat. *Epilepsia*, 50(6), 1432–1441.
- Galani, R., Jarrard, Le., Will, B., Kelche, C. (1997). Effects of postoperative housing conditions on functional recovery in rats with lesions of the hippocampus, subiculum, or entorhinal cortex. *Neurobiology of Learning and Memory*, 67:43-56.
- Gean, P., Huang, C., Hung, C., & Tsai, J. (1994). Valproic acid suppresses the synaptic response mediated by the NMDA receptors in rat amygdalar slices. *Brain Research Bulletin*, 33(3), 333–6.
- Geyer, M. A, Wilkinson, L. S., Humby, T., & Robbins, T. W. (1993) Isolation rearing of rats produces a deficit in prepulse inhibition of acoustic startle similar to that in schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 34:361-372.
- Gluck M. A., Mercado E., & Myers E. (2009). *Aprendizaje y memoria: Del cerebro al comportamiento*. México: McGraw Hill.
- Greenough W., Volkmar F., & Juraska J. (1973). Effects of rearing complexity on dendritic branching in frontolateral and temporal cortex of the rat. *Experimental Neurology*,41:371-378.
- Guitar, N., & Roberts, W. (2015). The interaction between working and reference spatial memories in rats on a radial maze. *Behavioural Processes*, 112, 100–107.
- Gutierrez M. & Garcia R. (2009). Estado epiléptico convulsivo en el adulto. *Revista de evidencia e Investigación clínica*, 3 (1), 26-36.
- Heim, C., & Nemeroff, C. (2001). The role of childhood trauma in the neurobiology of mood and anxiety disorders: Preclinical and clinical studies. *Biological Psychiatry*, 49(12), 1023–1039.
- Hellemans, K., Benge, L., & Olmstead, M. (2004) Adolescent enrichment partially reverses the social isolation syndrome. *Brain Research, Developmental Brain Research*, 150:103-115.
- Hodges, H. (1996). Maze procedures: the radial-arm and water maze compared. *Cognitive brain research*, 3: 167-181.
- Honig, W., & Urcuioli, P. (1981). The legacy of Guttman and Kalish (1956): Twenty-five years of research on stimulus generalization. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 36(3), 405–445.
- Honing W. (1978). Studies of working memory in the Pigeon. En: *Cognitive aspects of animal behavioral*. Editado por: S. H. Hulsen, W. K. Honing & Fowler. Lawrence Erlbaum Associates, Hillsdale. pp 211-248.

- Hsieh, L. & Huang, C. Y. (2009). Antiepileptic drug utilization in Taiwan: Analysis of prescription using National Health Insurance database. *Epilepsy Research*, 84(1), 21–27.
- Ingram, J., Peckham, S., Tisdale, B. & Rodier, P. (2000). Prenatal exposure of rats to valproic acid reproduces the cerebellar anomalies associated with autism. *Neurotoxicology and Teratology*, 22(3), 319–324.
- Ikonomidou, C., & Turski, L. (2010). Antiepileptic drugs and brain development. *Epilepsy Research*, 88(1), 11–22.
- Johannessen, C. U. (2000). Mechanisms of action of valproate: A commentary. *Neurochemistry International*, 37(2-3), 103–110.
- Juraska, J., Henderson, C., & Muller, J. (1984) Differential rearing experience, gender, and radial maze performance. *Developmental Psychobiology*, 17:209-215.
- Kaler, S. & Freeman, B. (1994) Analysis of environmental deprivation: cognitive and social development in Romanian orphans. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 35:769-781.
- Kandel E. & Hawkins R. (1992). Bases biológicas del aprendizaje y de la individualidad. En: Investigación y Ciencia. Pp. 49-57.
- Katz, L. & Shatz, C. (1996). Synaptic activity and the construction of cortical circuits. *Science* (New York, N.Y.), 274(5290), 1133–1138.
- Kini, U., Adab, N., Vinten, J., Fryer, A. & Clayton-Smith, J. (2006). Dysmorphic features: an important clue to the diagnosis and severity of fetal anticonvulsant syndromes. *Archives of Disease in Childhood. Fetal and Neonatal Edition*, 91(2), F90–F95.
- Kolb, B., Forgie, M., Gibb, R., Gorny, G. & Rowntree, S. (1998) Age, experience and the changing brain. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 22:143-159
- Kolb, B. & Gibb, R. (2011). Brain plasticity and behaviour in the developing brain. *Journal of the Canadian Academy of child and adolescent psychiatry*. 20 (4), 265-276.
- Kuwagata, M., Ogawa, T., Shioda, S., & Nagata, T. (2009). Observation of fetal brain in a rat valproate-induced autism model: a developmental neurotoxicity study. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 27(4), 399–405.
- Koch S., Jäger-Roman, E., Lösche, G., Nau, H., Rating, D., Helge, H., (1996). Antiepileptic drug treatment in pregnancy: drug side effects in the neonate and neurological outcome. *Acta Paediatrica*. 85 (6), 739–746.
- Lacroix, Damase-Michel, C., Lapeyre-Mestre, M., Montastruc, L. (2000). Prescription of drugs during pregnancy in France. *Lancet*, 356: 1735-6.
- Laurence, I., Brunton, J. S. & Parker, L. (2007). Las bases farmacológicas de la Terapéutica. México, D.F: McGraw-Hill.
- Laviola, G., Hannan, A. J., Macrì, S., Solinas, M., & Jaber, M. (2008). Effects of enriched environment on animal models of neurodegenerative diseases and psychiatric disorders. *Neurobiology of Disease*, 31(2), 159–168.

- Leonard. (1981). Effect of psychotropic drugs administered to pregnant rats on the behaviour of the of offspring. *Neuropharmacology*, 20: 1 (23).
- Lieberman, A. (2011). Human Learning and Memory. Estados Unidos: Cambridge University Express.
- Lindhout, D., Omtzigt, J., & Cornel, M. (1992). Spectrum of neural-tube defects in 34 infants prenatally exposed to antiepileptic drugs. *Neurology*, 42:111–18.
- Lorenzato, R., Cavalli, R., Duarte, G., Sakamoto, A., Mauad, F., & Nogueira, A. (2002). Epilepsy and pregnancy: Evolution and fetal outcome. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, 24 (8):521-526.
- Markowitsch H. (2000). The anatomical bases of memory. En: The new cognitive neurosciences. Editado por: Gazzaniga, M. S. Segunda Edición. pp 781-795.
- Markram, K., Rinaldi, T., La Mendola, D., Sandi, C., & Markram, H. (2008). Abnormal fear conditioning and amygdala processing in an animal model of autism. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 33(4), 901–912.
- Marson, A., Al-Kharusi, A., Alwaidh, M., Appleton, R., Baker, G., Chadwick, D. W., Cramp, C., Cockerell, O., Cooper, P., Doughty, J., Eaton, B., Gamble, C., Goulding, P., Howell, S., Hughen, A., Jackson, M., Jacoby, A., Kelleet, M., Lawson, G., Paul, J., Nicolaidis, P., Roberts, R., Shackley, P., Shen, J., Smith, D., Smith, P., Tudor, C., Vanoli, A. & Williamson, P. R. (2007). The SANAD study of effectiveness of valproate, lamotrigine, or topiramate of generalised and unclassifiable epilepsy: an unblinded randomised controlled trial. *Lancet*, 369(9566), 1684–1695.
- Matalon, S., Schechtman, S., Goldzweig, G., & Ornoy, a. (2002). The teratogenic effect of carbamazepine: A meta-analysis of 1255 exposures. *Reproductive Toxicology*, 16(1), 9–17.
- McVearry, K., Gaillard, W., VanMeter, J. & Meador, K. (2009). A prospective study of cognitive fluency and originality in children exposed in utero to carbamazepine, lamotrigine, or valproate monotherapy. *Epilepsy and Behavior*, 16(4), 609–616.
- Meador, K., Baker, G., Finnell, R., Kalayjian, L., Liporace, J., Loring, D. & Wolff, M. (2006). In Utero antiepileptic drug exposure: fetal death and malformations. *Neurology*, 67(3), 407–412.
- Meador, K., Baker, G., Cohen, M., Gaily, E., & Westerveld, M. (2007). Cognitive/behavioral teratogenetic effects of antiepileptic drugs. *Epilepsy and Behavior*, 11(3), 292–302.
- Menegola, E., Broccia, M., Di Renzo, F., & Giavini, E. (2002). Comparative study of sodium valproate-induced skeletal malformations using single or double staining methods. *Reproductive Toxicology*, 16(6), 815–823.
- Meredith, R. (2015). Sensitive and critical periods during neurotypical and aberrant neurodevelopment: A framework for neurodevelopmental disorders. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 50, 180–188.

- Moore, S., Turnpenny, P., Quinn A., Glover S., Lloyd D., Montgomery T., & D. J. C. S. (2000). A clinical study of 57 children with fetal anticonvulsant syndromes. *Journal of Medical Genetics*, 32, 489–497.
- Moore, K. (2005). *Embriología clínica: El desarrollo del ser humano*. Madrid, España: Elsevier.
- Morgane, M., Romanski, I. & LeDoux, J. (1993). Extinction of emotional learning: contribution of medial prefrontal cortex. *Neuroscience letters*, 163(1), 109-113.
- Morris, R., Garrud, P., Rawlins, J., & O'Keefe, J. (1982). Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, 297: 681-683
- Morrow, J., Russell, A., Guthrie, E., Parsons, L., Robertson, I., Waddell, R., Irwin, B., MGivern, R., Morrison, P. & Craig J. (2006). Malformation risks of antiepileptic drugs in pregnancy: an update from the UK Epilepsy and Pregnancy Register. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 81(11).
- Nanau, R. M., & Neuman, M. G. (2013). Adverse drug reactions induced by valproic acid. *Clinical Biochemistry*, 46(15), 1323–1338.
- Narita, M., Oyabu, A., Imura, Y., Kamada, N., Yokoyama, T., Tano, K., Uchida, A. & Narita, N. (2010). Nonexploratory movement and behavioral alterations in a thalidomide or valproic acid-induced autism model rat. *Neuroscience Research*, 66(1), 2–6.
- Narita, N., Kato, M., Tazoe, M., Miyazaki, K., Narita, M., & Okado, N. (2002). Increased monoamine concentration in the brain and blood of fetal thalidomide- and valproic acid-exposed rat: Putative animal models for autism. *Pediatric Research*, 52(4), 576–579.
- Nuvia, S., Bringas, M., Atzori, M. & Flores, G. (2014). Prefrontal cortex, hippocampus, and basolateral amygdala plasticity in a rat model of autism spectrum. *Synapse*, 473(February), n/a–n/a.
- Olafsson, E., Hallgrímsson, J., Hauser, W., Ludvigsson, P., & Gudmundsson, G. (1998). Pregnancies of women with epilepsy: a population-based study in Iceland. *Epilepsia*, 39(8), 887–892.
- Olesen, C., Steffensen, F., Nielsen, G., Jong-van den Berg, L., Olsen, J., & Sorensen, H. (1999). Drug use in first pregnancy and lactation: a population-based survey among Danish women. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 55, 139–144.
- Olson, I., & Chun, M. (2002). Perceptual constraints on implicit learning of spatial context. *Visual Cognition*, 9(3), 273–302.
- Olton, D., & Papas, B. (1979). Spatial memory and hippocampal function. *Neuropsychologia*, 17, 669–682.
- Olton D. & Samuelson R. (1976). Remembrance of places: Spatial Memory in rats. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 2: 97-116.
- Ornoy, A. (2006). Neuroteratogens in man: An overview with special emphasis on the teratogenicity of antiepileptic drugs in pregnancy. *Reproductive Toxicology*, 22(2), 214–226.

- Ornoy, A. (2007). Embryonic oxidative stress as a mechanism of teratogenesis with special emphasis on diabetic embryopathy. *Reproductive Toxicology*, 24(1), 31–41.
- Ornoy, A. (2009). Valproic acid in pregnancy: How much are we endangering the embryo and fetus? *Reproductive Toxicology*, 28(1), 1–10.
- Palmer, F., Shapiro, B., Allen, M., Mosher, B., Bilker, S., Harryman, S., Meinert, C. & Capute, A. (1990). Infant stimulation curriculum for infants with cerebral palsy: effects on infant temperament, parent-infant interaction, and home environment. *Pediatrics* 85, 411-415.
- Perucca, E., & Tomson, T. (2006). Prenatal exposure to antiepileptic drugs. *The Lancet*, 367(9521), 1467–1469.
- Phiel, C., Zhang, F., Huang, E., Guenther, M., Lazar, M., & Klein, P. (2001). Histone Deacetylase is a Direct Target of Valproic Acid, a Potent Anticonvulsant, Mood Stabilizer, and Teratogen. *Journal of Biological Chemistry*, 276(39), 36734–36741.
- Picard, L., Cousin, S., Guillery-Girard, B., Eustache, F., & Piolino, P. (2012). How Do the Different Components of Episodic Memory Develop? Role of Executive Functions and Short-Term Feature-Binding Abilities. *Child Development*, 83(3), 1037–1050.
- Pietropaolo, S., Branchi, I., Cirulli, F., Chiarotti, F., Aloe, L. & Alleva, E., (2004) Long-term effects of the periadolescent environment on exploratory activity and aggressive behaviour in mice: social versus physical enrichment. *Physiology Behavior*, 81, 443-453
- Poch, O. M. (2001). Neurobiología del desarrollo temprano. Contextos educativos, 4 (1), 79-94
- Porter, R. (2002) Antiepilepticos Farmacología básica y clínica. Bertrand Katzung octava edición 2002. Cap. 24; página 451-477.
- Pothuizen, H., Zhang, W., Jongen-Rêlo, A., Feldon, J. & Yee, B. (2004). Dissociation of function between the dorsal and the ventral hippocampus in spatial learning abilities of the rat: A within-subject, within-task comparison of reference and working spatial memory. *European Journal of Neuroscience*, 19(3), 705–712.
- Raine, A., Venables, P., Dalais, C., Mellingen, K., Reynolds, C., & Mednick, S. (2001). Early educational and health enrichment at age 3-5 years is associated with increased autonomic and central nervous system arousal and orienting at age 11 years: evidence from the Mauritius Child Health Project. *Psychophysiology*, 38(2), 254–266.
- Reinisch, J., Sanders, S., Mortensen, E. & Rubin D. (1995). In utero exposure to phenobarbital and intelligence deficits in adult men. *The journal of the American Medical Association*, 244 (19), 1518-1525.
- Rodríguez, A., Domínguez, S., Cantín, M. & Rojas M. (2015). Embriología del Sistema Nervioso. *International Journal of Medical and Surgical Sciences* ,2(1), 385-400
- Rosa, F. W. (1991). Spina Bifida in infants of women treated with carbamazepine during pregnancy. *The New England Journal of Medicine*, 324(10), 674–677.

Rosenzweig, M., Bennett, E., Diamond, M., Wu, S., Slagle, R., & Saffran, E. (1969). Influences of environmental complexity and visual stimulation on development of occipital cortex in rat. *Brain Research*, 14:427 -445.

Rosselli, M., Matute, E. & Ardila A. (2010). Neuropsicología del desarrollo infantil. México: Manual moderno.

Roulet, F., Lai, J., & Foster, J. (2013). In utero exposure to valproic acid and autism - A current review of clinical and animal studies. *Neurotoxicology and Teratology*, 36, 47–56.

Rout, U.& Clausen, P. (2009). Common increase of GATA-3 level in PC-12 cells by three teratogens causing autism spectrum disorders. *Neuroscience Research*, 64(2), 162–169.

Rubio, D., Reséndiz-Aparicio, J., Sentíes-Madrid, H., Alonso-Venegas, M., Salgado-Lujambio, P. & Ramos-Peek, J. (2007). En Epilepsia. Programa prioritario de epilepsia. Sector de Epilepsia. Sector Salud. 1a. Ed.

Salas-Puig, J. (2005). Farmacología del valproato sódico. Emergencias. Revista de La Sociedad Española de Medicina de Urgencias Y Emergencias, 17, 1079–1082. Retrieved from <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1334485&orden=55569&info=link> \n <http://dialnet.unirioja.es/servlet/extart?codigo=1334485>

Sánchez, R. (1995). Medicamentos y embarazo. Boletín Terapéutico Andaluz, 11 (Monografías no 8): pp 1-50.

Sánchez, R. & Gil, M. (2011). Manejo de fármacos durante el embarazo. *Sistema nacional de salud*, 35(4), 107-113.

Schneider, T., & Przewłocki, R. (2005). Behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid: animal model of autism. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 30(1), 80–89.

Schneider, T., Turczak, J.& Przewłocki, R. (2006). Environmental enrichment reverses behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid: Issues for a therapeutic approach in autism. *Neuropsychopharmacology*, 31(1), 36–46.

Segovia, S. y Guillamón, A. (1985). *Psicobiología del desarrollo*. Barcelona, España: Editorial Ariel, S.A.

Shallice T. (1972). Dual functions of Consciousness. *Psychological Review*. 79: 383-393.

Sobaniec-Lotowska, M. (2001). Ultrastructure of Purkinje cell perikarya and their dendritic processes in the rat cerebellar cortex in experimental encephalopathy induced by chronic application of valproate. *International Journal of Experimental Pathology*, 82(6), 337–348.

Sodhi, M. & Sanders-Bush, E. (2004). Serotonin and brain development. *International Review of Neurobiology*, 59, 111–174.

- Solís, H. & López-Hernández, E. (2009). Neuroanatomía funcional de la memoria. *Archivos de Neurociencias*, 14(3), 176–187.
- Squire, L. R. (1992). Nondeclarative Memory: Multiple Brain Systems Supporting Learning. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 4(3), 232–243.
- Squire, L. & Knowlton, B. (1995). Memory, hippocampus, and brain systems. Editado por: Gazzaniga M. S. *The cognitive neurosciences*. Cambridge: MIT Press. pp. 825 – 837.
- Snyder E., Nong Y., Almeida C., Paul S., Moran T., Choi E. Y., Nairn A., Salter M. W., Lombroso P., Gouras G., Greengard P. (2005). Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid-beta. *Nature Neuroscience*. 8, 1051–105.
- Suzuki, S., Augerinos, G. & Black, A. (1980). Stimulus control of spatial behavior on the eight-arm maze in rats. *Learning and Motivation*, 11, 1-18.
- Tamariz, D. (2012). Mecanismos de Proyección axonal durante el desarrollo embrionario, lecciones importantes para la neuroregeneración y el desarrollo de biomateriales. Revista Médica Universidad Veracruzana. Volumen especial.
- Terbach, N. & Williams, R. (2009). Structure-function studies for the panacea, valproic acid. *Biochemical Society Transactions*, 37(Pt 5), 1126–1132.
- Tomson, T., Battino, D., Bonizzoni, E., Craig, J., Lindhout, D., Sabers, A., Vajda, F. (2011). Dose-dependent risk of malformations with antiepileptic drugs: An analysis of data from the EURAP epilepsy and pregnancy registry. *The Lancet Neurology*, 10(7), 609–617.
- Tulving, E. (1985). Ebbinghaus Memory: What Did He Learn and Remember?
- Tulving, E. (2001). Episodic memory and common sense: how far apart? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 356(1413), 1505–1515.
- Tulving, E., Schacter, D., McLachlan, D. & Moscovitch, M. (1988). Priming of semantic autobiographical knowledge: a case study of retrograde amnesia. *Brain and Cognition*.
- Umka, J., Mustafa, S., ElBeltagy, M., Thorpe, a., Latif, L., Bennett, G., & Wigmore, P. M. (2010). Valproic acid reduces spatial working memory and cell proliferation in the hippocampus. *Neuroscience*, 166(1), 15–22.
- Vajda, F., O'Brien, T., Hitchcock, A., Graham, J., Cook, M., Lander, C. & Eadie, M. J. (2004). Critical relationship between sodium valproate dose and human teratogenicity: Results of the Australian register of anti-epileptic drugs in pregnancy. *Journal of Clinical Neuroscience*, 11(8), 854–858.
- Van't Hooft, I., Andersson, K., Sejersen, T., Bartfai, A., & Von-Wendt, L. (2003). Attention and memory training in children with acquired brain injuries. *Acta Paediatrica*, 92(8), 935–940.

- Vanya, M., Árvá-Nagy, N., Szili, K., Szok, D. & Bartfai, G.(2015). Effects of maternal epilepsy and antiepileptic therapy in women during pregnancy. *Eredeti Közlemény*, 68(3-4), 105–112.
- Venebra-Muñoz A., Corona M., Caba M., & G. G. F. (2008). Efecto del enriquecimiento ambiental durante la etapa posnatal sobre el consumo de nicotina en etapa adulta de la rata. *Revista Médica de La Universidad Veracruzana*, 8, 30–32.
- Vinten, J., Adab, N., Kini, U., Gorry, J., Gregg, J., & Baker, G. (2005). Neuropsychological effects of exposure to anticonvulsant medication in utero. *Neurology*, 64(6), 949–954.
- Vinten, J., Bromley, R., Taylor, J., Adab, N., Kini, U., & Baker, G. (2009). The behavioral consequences of exposure to antiepileptic drugs in utero. *Epilepsy and Behavior*, 14(1), 197–201.
- Vorhees, C. (1987). Behavioral teratogenicity of valproic acid: selective effects on behavior after prenatal exposure to rats. *Psychopharmacology*, 92(2), 173–179.
- Wagner, G., Reuhl, K., Cheh, M., McRae, P. & Halladay, A. (2006). A new neurobehavioral model of autism in mice: Pre- and postnatal exposure to sodium valproate. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 36(6), 779–793.
- Walsh, R., Budtz-Olsen, O., Penny, J. & Cummins, R. (1969). The effects of environmental complexity on the histology of the rat hippocampus. *The Journal of Comparative Neurology*, 137(3), 361–366.
- Wegner C., Nau H. (1992). Alteration of embryonic folate metabolism by valproic acid during organogenesis: implications for mechanism of teratogenesis. *Neurology*, 42(4 suppl 5):17-24.
- Wyszynski, D., Nambisan, M., Surve, T., Alsdorf, R., Smith, C. & Holmes, L. (2005). Increased rate of major malformations in offspring exposed to valproate during pregnancy. *Neurology*, 64(6), 961–965.
- Woo, C.& Leon, M. (2013). Environmental enrichment as an effective treatment for autism: a randomized controlled trial. *Behavioral Neuroscience*, 127(4), 487–97.
- Yamada, K., Shimizu, M., Kawabe, K.& Ichitani, Y. (2015). Hippocampal AP5 treatment impairs both spatial working and reference memory in radial maze performance in rats. *European Journal of Pharmacology*, 758, 137–141.
- Zhang, M., Xiao, C., Yu, K. & Ruan, D. (2003). The influence of developmental periods of sodium valproate exposure on synaptic plasticity in the CA1 region of rat hippocampus. *Food and Chemical Toxicology*, 41(11), 1617–1623.

