

Efectos del estrés de inmovilización *in utero* sobre la evolución de la preñez de la rata y varios parámetros de los neonatos

M. Rojo-Fernández, B. Marín * y A. Menéndez-Patterson

Departamento Interfacultativo de Fisiología
(Medicina y Biología)
Universidad de Oviedo
33006-Oviedo

(Recibido el 28 de agosto de 1984)

M. ROJO-FERNANDEZ, B. MARIN and A. MENENDEZ-PATTERSON. *Effects of in utero Immobilization Stress Upon the Evolution of Pregnancy in Rats and Various Parameters of Newly Born.* Rev. esp. Fisiol., 41, 29-36. 1985.

The effects of immobilization stress applied during pregnancy on the evolution of pregnant rats and on the fetus and newborn have been studied. Results show alterations in food intake during pregnancy as well as in the weight of some measured structures in 21 day old fetuses. There was similarly found a significant increase in the number of dead newborn. The effect of immobilization stress applied *in utero* upon the evolution of pregnancy, fetus and newborn, is discussed.

Key words: Immobilization stress, Newborn, Pregnancy.

La acción del estrés como factor desencadenante de numerosos efectos fisiológicos es conocida y ha sido estudiada desde hace tiempo. Así, diversos tipos de estrés aplicados durante la gestación, tales como desnutrición, ansiedad, inmovilización, temperaturas extremas, superpoblación, etc., producen una reducción del peso materno (9) y un alargamiento del periodo de gestación (10), además de alteraciones en la conducta materna (12).

Cabe destacar que, a nivel de los fetos, pueden también detectarse alteraciones

producidas por el estrés, como hendiduras palatales (1) y un aumento de mortalidad fetal (15). La mayoría de las veces estas modificaciones van parejas a altos niveles de corticosterona (1).

Por otra parte, el estrés prenatal altera fisiológicamente a las hembras descendientes (3, 7), causando ciclos del estro irregulares, incrementando el número de abortos y reduciendo la capacidad de concepción. En cuanto a los machos descendientes, las alteraciones pueden oscilar desde ligeras variaciones en su conducta sexual (7) hasta presentar feminización y desmasculinización, acompañado de un fuerte descenso de los niveles de testosterona (16).

* A quien debe dirigirse toda la correspondencia.

En el presente trabajo estudiamos, en rata, los efectos de la aplicación del estrés de inmovilización psicofísica durante el embarazo, sobre varios parámetros de la madre gestante así como sobre los fetos y los neonatos, en un intento de poner de manifiesto las implicaciones que acompañan a este tipo de estrés, que podríamos considerar como débil, y, más extrapolable a situaciones similares en la especie humana.

Material y métodos

Se utilizaron ratas Wistar, mantenidas en condiciones estándar de luz (12 L-12 O), temperatura (23 ± 3 °C), y humedad absoluta y con libre acceso a la comida y a la bebida.

Se seleccionaron machos y hembras en base a su madurez sexual. Las hembras presentaron un ciclo de estro perfecto (4-5 días) y no habían tenido contacto previo con machos, los cuales eran de cuatro meses de edad y de probada capacidad eyaculatoria.

El emparejamiento se realizó colocando tres hembras y un macho en la misma jaula durante la noche. La copulación era verificada a la mañana siguiente en base a la presencia de espermatozoides en la vagina. Las hembras preñadas eran separadas al azar en dos grupos: control (10 animales) y experimental (9 animales).

Las ratas del grupo experimental fueron sometidas a un estrés de tipo inmovilización psicofísica, que se conseguía introduciendo al animal en unos tubos de plástico (con agujeros para facilitar la respiración) adaptados a su tamaño, colocados en posición horizontal y suspendidos en el aire (8). Este estrés les era impuesto durante tres horas diarias, comenzando siempre a las trece horas, incrementando el tiempo de exposición en quince minutos cada segundo día con el fin de evitar una posible adaptación. La

aplicación de este estrés se prolongó hasta el momento del parto.

Se controló el peso de las madres (cada segundo día) desde la preñez hasta el destete (21 días después del parto). El día 21 de preñez se determinó el peso de diversas estructuras fetales en una balanza analítica. Se controló el número y peso de las crías en el momento de nacer, así como el número de crías muertas y el de embarazos a término.

Con el fin de seguir los efectos del estrés sobre la preñez, en los días 7, 14, 18 y 21 se recogieron muestras sanguíneas de la madre a nivel de la aorta renal (eliminándola a continuación para evitar los efectos del estrés), determinándose los niveles de glucosa (método de la glucosa-oxidasa). En los mismos días —14, 18, 21— de preñez se extrajeron distintas estructuras orgánicas de la madre para pesarlas.

Los resultados fueron estadísticamente analizados de acuerdo con la «t» de Student, la «F» de SNEDECOR (14) y la correlación X^2 de PEARSON (2).

Resultados

El tanto por ciento de madres preñadas que no llevan a término su embarazo es del 18 % en las experimentales frente a un 10 % en las controles, la diferencia no es significativa.

Los pesos relativos de distintas estructuras (pineal, hipófisis, ovarios, adrenales, cerebro y riñón) de las madres en los días 14, 18 y 21 de su preñez no muestran diferencias significativas entre las ratas de ambos grupos, así como la evolución del peso de las madres desde el primer día de la preñez hasta el momento del destete de las crías.

La ingesta de alimento durante la preñez es significativamente menor en las hembras sometidas a estrés que en las controles (fig. 1).

El peso corporal y los pesos absolutos y relativos de varias estructuras en fetos

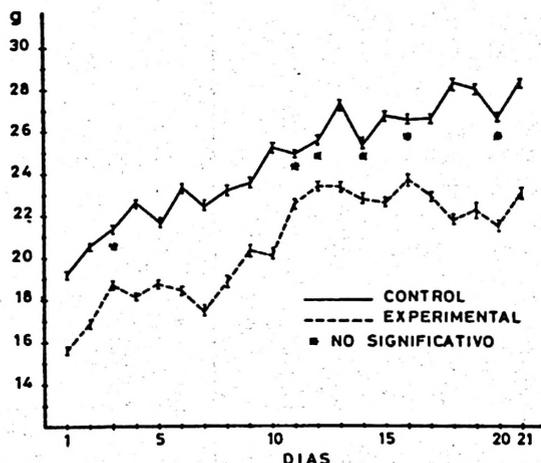


Fig. 1. Ingesta de alimento durante la gestación.

de 21 días muestra un aumento significativo tanto en machos como en hembras descendientes de madres sometidas a estrés, así como en distintas estructuras (tabla I), manteniéndose un mayor peso significativo en alguna de ellas (hígado y riñón), frente a los controles. En cuanto a los pesos relativos (% g de peso cor-

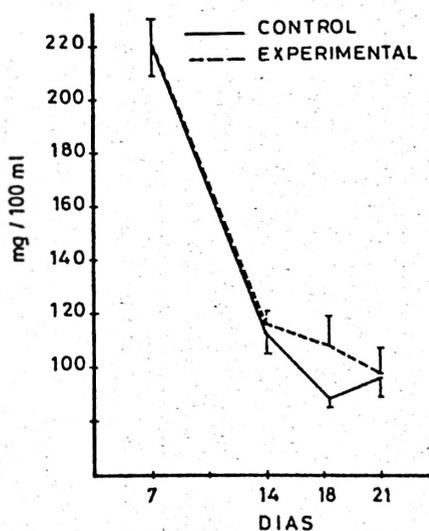


Fig. 2. Glucosa en sangre durante el embarazo.

poral), sólo muestran diferencias significativas respecto al hígado.

El número de crías por camada, el peso de los neonatos y alguna de sus estructuras (cerebro, hígado, riñón y testículos), no presenta diferencias salvo en los pesos relativos para el cerebro.

El porcentaje de mortandad en el nacimiento se refleja en la tabla III, observándose una mayor mortandad estadísticamente significativa, en el número de machos experimentales (18 %) frente al de los controles (3,77 %).

Por último, en la figura 2, se representa la concentración de glucosa en sangre a lo largo del periodo de preñez, no apreciándose diferencias significativas.

Discusión

El modelo de estrés aplicado ocasiona en las madres un ligero descenso del peso corporal, que no alcanza significación estadística. Datos similares han sido encontrados en la bibliografía (18), aunque el agente estresante utilizado era diferente. Tampoco se registra ninguna diferencia a nivel del peso relativo de las estructuras estudiadas. Por otra parte, las madres estresadas ingieren, significativamente, menos comida a lo largo de la preñez que las controles (fig. 1) y, sin embargo, la evolución de la glucemia durante la preñez fue totalmente normal (fig. 2), mostrando al final del periodo gestacional un descenso, tal como ya se ha descrito en la bibliografía (6). Por otra parte, en los fetos de 21 días, de madres experimentales, se observa un incremento en el peso corporal y en los pesos absolutos y relativos del hígado y los riñones (tabla I).

En un intento de relacionar todos estos datos, se debe partir de una marcada relación madre-feto, y, de un metabolismo especial durante la preñez. El estrés, puede ocasionar a través del Sistema Nervioso Central (5), un descenso de la

Tabla I. Efectos del estrés in utero sobre el peso corporal y el peso absoluto y relativo ($\bar{x} \pm S.E.$) de varias estructuras en fetos de 21 días.
Entre paréntesis, el número de datos.

	Experimental		Control		F	Comparaciones *	P
	Machos (A)	Hembras (B)	Machos (C)	Hembras (D)			
Corporal	4,90 \pm 0,090 (26)	4,02 \pm 0,060 (21)	3,81 \pm 0,060 (31)	3,60 \pm 0,080 (29)	6,89	A vs B; A vs C A vs D; C vs B C vs D; B vs D	0,01 0,01 0,01 N.S. N.S.
Cerebro	Abs (g) 0,16 \pm 0,003 (25) Rel (g %) 4,06 \pm 0,007 (26)	0,16 \pm 0,002 (21) 4,08 \pm 0,008 (21)	0,16 \pm 0,003 (31) 4,15 \pm 0,080 (31)	1,15 \pm 0,003 (29) 4,31 \pm 0,120 (29)	2,66 1,26		
Higado	Abs (g) 0,35 \pm 0,010 (26) Rel (g %) 8,54 \pm 0,009 (26)	0,34 \pm 0,010 (21) 8,36 \pm 0,020 (21)	0,28 \pm 0,009 (31) 7,31 \pm 0,170 (31)	0,28 \pm 0,009 (29) 7,91 \pm 0,170 (29)	11,82 10,95	A vs C; A vs D C vs B; B vs D A vs C; C vs B A vs D; C vs D	0,01 0,01 0,01 0,05
Riñones	Abs (g) 0,03 \pm 0,001 (26) Rel (g %) 0,79 \pm 0,001 (24)	0,03 \pm 0,007 (21) 0,81 \pm 0,002 (19)	0,03 \pm 0,001 (31) 0,73 \pm 0,020 (31)	0,03 \pm 0,001 (29) 0,76 \pm 0,010 (29)	9,26 2,23	A vs C; A vs D B vs D C vs B	0,01 0,01 0,05 N.S.
Testículos	Abs (g) 0,002 \pm 0,0001 (26) Rel (g %) 0,071 \pm 0,0020 (26)		0,002 \pm 0,0002 (31) 0,070 \pm 0,0060 (30)		0,89 0,16		N.S. N.S.

* Sólo se representan las comparaciones estadísticamente significativas. N.S. = estadísticamente no significativo.

Tabla II. Efectos del estrés *in utero* sobre el número de crías por camada, el peso corporal y el peso absoluto y relativo ($\bar{X} \pm S.E.$) de varias estructuras en recién nacidos.
Entre paréntesis, el número de datos.

	Experimental		Control		F	Comparaciones *	P
	Machos (A)	Hembras (B)	Machos (C)	Hembras (D)			
Número de crías por camada	5,13 \pm 0,990 (8)	4,88 \pm 1,030 (8)	5,10 \pm 1,030 (10)	4,50 \pm 0,96 (10)	0,09		N.S.
Peso de los neonatos	5,99 \pm 0,098 (20)	5,70 \pm 0,130 (10)	5,89 \pm 0,120 (16)	5,50 \pm 0,19 (11)	2,28		N.S.
Cerebro	Abs (g)	0,23 \pm 0,004 (13)	0,24 \pm 0,020 (10)	0,21 \pm 0,01 (16)	1,93		N.S.
	Rel (g%)	3,76 \pm 0,200 (13)	4,19 \pm 0,120 (10)	3,52 \pm 0,070 (16)	3,93 \pm 0,09 (11)	9,33	A vs B; A vs C A vs D; B vs C B vs D; C vs D
Higado	Abs (g)	0,23 \pm 0,010 (13)	0,23 \pm 0,080 (10)	0,24 \pm 0,006 (16)	0,24 \pm 0,01 (11)	0,10	N.S.
	Rel (g%)	3,95 \pm 0,170 (13)	4,10 \pm 0,830 (10)	4,01 \pm 0,160 (16)	4,47 \pm 0,22 (11)	1,99	N.S.
Riñones	Abs (g)	0,05 \pm 0,001 (13)	0,05 \pm 0,017 (10)	0,05 \pm 0,020 (16)	0,05 \pm 0,02 (11)	0,83	N.S.
	Rel (g%)	0,91 \pm 0,021 (13)	0,90 \pm 0,012 (10)	0,95 \pm 0,020 (16)	0,93 \pm 0,03 (11)	1,94	N.S.
Testículos	Abs (g)	0,004 \pm 0,0002 (13)		0,0030 \pm 0,0008 (16)		1,99	N.S.
	Rel (g%)	0,070 \pm 0,0050 (13)		0,0563 \pm 0,0020 (16)		2,40	N.S.

* Sólo se representan las comparaciones estadísticamente significativas. N.S. = estadísticamente no significativo.

Tabla III. Efectos del estrés de inmovilización in utero sobre el % de mortandad en el nacimiento.

Grupos	Vivos	Muertos	Mortandad %	Comparaciones	X ²	P
Macho experimental (A)	41	9	18,00	A vs C	4,06	0,05
Hembra experimental (B)	39	3	7,14	A vs B	1,51	N.S.
Macho control (C)	51	2	3,77	C vs D	0,02	N.S.
Hembra control (D)	45	1	2,17	B vs D	0,36	N.S.

ingesta de alimentos, lo que coincide con nuestros resultados y a la vez, desencadena la liberación de adrenalina y noradrenalina (11), que producen un aumento de la lipólisis, de la degradación de las proteínas y del glucógeno (4) lo cual puede desencadenar un ligero descenso del peso de la madre, sumándose a ello la menor ingesta. Cuando el estrés es de intensidad débil, los niveles de las hormonas citadas anteriormente no serán muy elevados, y por tanto los efectos en la madre no serán muy acusados. De hecho no se aprecian cambios significativos en ninguna de las estructuras de la madre, ni en los niveles de glucosa en plasma. Sin embargo, los metabolitos resultantes pasarán la barrera placentaria (4) en una proporción ligeramente superior en los experimentales que en los controles, lo cual se traducirá en ese mayor peso corporal y de estructuras, riñón e hígado, en los fetos de 21 días. Este razonamiento metabólico es necesario apoyarlo con más determinaciones bioquímicas, y en este sentido se está trabajando.

En cuanto a la duración de la gestación no da diferencias estadísticamente significativas entre las madres controles y las experimentales, coincidiendo nuestros datos con los de otros autores (10), en el sentido de que, cuando el agente estresante utilizado es de gran intensidad, se alarga el periodo de gestación, pero cuando este agente no es intenso, como ocurre en nuestro caso, no se producen cambios en la duración de la preñez.

Los efectos del estrés de inmovilización sobre el número, el peso de los neonatos y sus estructuras (tabla II), no dan diferencias significativas, salvo en el peso relativo del cerebro, entre los hijos de madres controles y los de estresadas. Estos datos coinciden con los de otros autores (8) que también utilizan una situación de estrés débil, aunque otros autores (13) encuentran marcadas diferencias debido a que la situación de estrés a la que someten a las madres es mucho más intensa, y como puede apreciarse a lo largo de la bibliografía (10), cada agente estresante puede producir una respuesta diferente. El peso de los neonatos, podría parecer una discrepancia al compararlo con el de los fetos de 21 días; mientras los hijos de madres sometidas a estrés pesan igual que los controles, los fetos pesan significativamente más. Se apunta una posible hipótesis, pendiente de comprobación, para esta aparente discrepancia: Los neonatos son pesados, transcurridas varias horas después del parto una vez que han mamado (aparecen los estómagos blancos de leche), y como el estrés aplicado durante el embarazo produce un descenso en la secreción de prolactina (9), es lógico que las madres experimentales produzcan menos leche que las controles, lo que se traducirá en un decremento del peso de los neonatos, igualándose al peso medio de los controles.

En cuanto al porcentaje de mortandad en los recién nacidos (tabla III), nuestros resultados coinciden con la bi-

bliografía que señala, tanto en los animales de experimentación como en la especie humana (15), que el estrés *in utero* produce un aumento de la mortalidad en la descendencia. En este caso, cabe señalar que mueren más machos que hembras, siendo ya conocido el hecho de que las hembras resisten mejor cualquier situación de estrés (17).

A la vista de estos resultados se puede decir que, a pesar de que el estrés utilizado puede considerarse como débil, se producen alteraciones en las madres y en los descendientes que deben de ser tenidas en cuenta a la hora de la posible extrapolación de estos resultados a la especie humana.

Resumen

Se estudian los efectos de un tipo de estrés (la inmovilización psicofísica) aplicada durante la preñez, sobre el desarrollo y la evolución de la madre gestante, así como su acción sobre los fetos y los recién nacidos. Los resultados indican alteraciones a nivel de la cantidad de comida ingerida durante la preñez y en los pesos de diversas estructuras medidas en fetos de 21 días. También aparece un aumento significativo del número de neonatos muertos. Se discute el papel del estrés aplicado *in utero* sobre la evolución de la preñez y sobre el desarrollo de fetos y recién nacidos.

Bibliografía

1. BARLOW, S., McELHATTON, P., MORRISON, P. y SULLIVAN, F.: *J. Physiol.*, 239, 55-56, 1974.
2. DONNIE, N. y HEATH, R.: En «Métodos estadísticos aplicados», Editorial Castillo, S. A., Madrid, 1971, pp. 218-221.
3. HERRENKOHL, L.: *Amer. Psychol. Assoc.*, 31, 221-228, 1978.
4. HERRERA, E.: *Investigación y Ciencia*, 19, 14-24, 1978.
5. MARÍN, B.: *Ann. Inst. esp. Farm.*, 15/17, 127-139, 1970.
6. MARYNISSEN, G., AERTS, L. y VAN ASSCHE, F. A.: *J. Develop. Physiol.*, 5, 373-381, 1983.
7. MENÉNDEZ-PATTERSON, A., FERNÁNDEZ, S. y MARÍN, B.: *Rev. esp. Fisiol.*, 38, 433-440, 1982.
8. MENÉNDEZ-PATTERSON, A., FLÓREZ, J. A., FERNÁNDEZ, S. y MARÍN, B.: *An. Psicol.*, 22, 41-49, 1980.
9. POLITICH, J. y HERRENKOHL, L.: *Physiol. Behav.*, 33, 415-418, 1979.
10. RHEES, R. y FLEMING, D.: *Physiol. Behav.*, 27, 879-882, 1981.
11. SAAVEDRA, J. M.: *Neuroendocrinol.*, 35, 396-401, 1982.
12. SIMON, L. y GANDELMAN, R.: *Behav. Biol.*, 27, 879-880, 1981.
13. SMITH, D. J., HESELTINE, F. y CORSON, J. A.: *Life Sci.*, 100, 1233-1242, 1971.
14. SNEDECOR, G. W.: En «Statistical methods». Iowa State University Press, Iowa, 1956, pp. 875-878.
15. STOTT, D. H.: *Develop. Med. Child. Neurol.*, 15, 770-787, 1973.
16. WARD, I. L.: *Science*, 175, 82-84, 1972.
17. WIDDOWSON, E. M.: *Proc. Nutr. Soc.*, 35, 175-180, 1976.
18. WILKE, D., TSEU, S., RHEES, R. y FLEMING, D.: *Horm. Behav.*, 16, 293-303, 1982.

