



**Universidad Abierta Interamericana**

**Facultad de Psicología y Relaciones Humanas**

**EFFECTO DE LA EXPOSICIÓN AL OLOR MATERNO y AL SABOR  
ALCOHOL SOBRE LAS RESPUESTAS DE SUCCIÓN HACIA UN  
PEZÓN ARTIFICIAL**

**Autora: Andrea Loarte**

**Tutora: Giselle Kamenetzky**

**Cotutora: Andrea Suárez**

**Título a obtener: Licenciatura en Psicología**

**Febrero, 2016**

**Resumen:** Algunos estudios muestran que se establecen memorias tempranas hacia el alcohol que luego se evidencian en la vida postnatal. Las conductas de apego y sus mecanismos neurobiológicos influenciarían en este fenómeno. Ratas expuestas al alcohol durante la etapa perinatal incrementan su consumo en etapas posteriores del desarrollo, en comparación con animales que nunca fueron expuestos al alcohol. Un método para medir tales aprendizajes durante etapas neonatales es el uso de un pezón artificial. Ratas que fueron pre-expuestas a un olor neutro inmediatamente después del nacimiento, posteriormente mostraban mayores respuestas hacia un pezón artificial que contenía una solución aversiva, en presencia de dicho olor. El objetivo de esta tesina fue evaluar si dichos resultados se generalizan a un olor pre-expuesto biológicamente relevante y a una solución que emula el sabor a alcohol en ratas neonatas. Se halló que crías evaluadas en presencia del olor materno mostraron menor latencia y mayor frecuencia y duración de agarre al pezón artificial, en comparación con el grupo control. Los datos arrojan luz sobre los mecanismos que podrían estar implicados en el incremento del consumo de alcohol en ratas expuestas a esta droga durante la temprana infancia. Asimismo, contribuyen a la construcción de un modelo animal para estudiar los aprendizajes relacionados con claves olfativas y sus implicancias para la comprensión del desarrollo de las adicciones.

**PALABRAS CLAVES: ALCOHOL, OLOR MATERNO, APRENDIZAJE OLFATORIO, RESPUESTA DE SUCCIÓN, RATAS NEONATAS.**

**Abstract:** Some studies showed that the earliest memories influence as tendencies toward alcohol drinking during postnatal life. The attachment behavior and its neurobiological mechanisms may influence in this phenomenon. Rats exposed to alcohol during perinatal stage increase the drinking during later stages of growing, in comparison with other animals that were never exposed to alcohol. A method to measure those learnings during neonatal stages is the use of artificial nipple. Rats that were pre-exposed to a neuter odor immediately after their birth showed major reaction toward the artificial nipple which had an aversive substance. The purpose of this thesis was to know if those results may be generalized to an outstanding biologically pre-exposed odor and to a substance that matches the alcohol taste in neonate rats. It was found that pups evaluated in the presence of mother's odor showed minor latency, major frequency and long-term to attachment of artificial nipple in comparison to the controlled group. These data explain the methods that may be implied in the increasing of alcohol consumption in rats exposed to this drug during the earliest infancy. Likewise, these data contribute to the creation of a model to study animal learnings with olfactory stimulies and their implication to the understanding of the development of addictions.

**KEY WORDS: ALCOHOL, MATERNAL ODOR, OLFACTORY LEARNING, SUCKLING RESPONSES, NEONATES RATS.**

# Índice de contenido

Resumen.....	1
Abstract .....	2
Agradecimientos.....	5
Financiación .....	7
Introducción .....	8
<i>Figura 1.</i> Esquema de representación madre-cría .....	11
Capítulo 1. Aprendizajes sensoriales en humanos .....	16
<i>Figura 2.</i> Procedimiento de doble elección para la exposición de los ácidos grasos sintéticos, líquido amniótico o agua destilada.....	17
1.1Aprendizajes sensoriales con olores y sabor a alcohol en niños y bebes.....	19
<i>Figura 3.</i> Reacciones hedónicas apetitivas o aversivas hacia el alcohol..	21
Capítulo 2. Aprendizaje sensorial en ratas.....	25
2. 1 Aprendizaje prenatal.....	28
2.2 Aprendizaje posnatal.....	31
Capítulo 3. Descripción del estudio .....	36
3.1 Objetivos de la investigación .....	36
3.1.1 Objetivo general.....	36
3.1.2 Objetivo especifico .....	36
3.2 Metodología.....	36

3.2.1 Participantes .....	36
3.2.2 Instrumentos .....	36
<i>Figura 4. Pezón artificial y set de evaluación</i> .....	37
3.2.3 Procedimiento .....	38
<i>Figura 5. Línea temporal</i> .....	39
Tabla 1. Diseño experimental .....	39
3.2.4 Tipo de estudio .....	40
Capítulo 4. Resultados .....	40
<i>Figura 6.</i> .....	41
<i>Figura 7.</i> .....	42
<i>Figura 8.</i> .....	43
<i>Figura 9.</i> .....	44
<i>Figura 10</i> .....	45
Discusión.....	46
Referencias.....	50

## **Agradecimientos:**

Agradezco a todas las personas que me han apoyado en todo este trayecto estudiantil, que nunca dejaron de creer en mí y siguieron paso a paso este sueño.

En primer lugar quisiera agradecer a Alba Mustaca, quien en el 2013 mientras cursaba taller de Integración III me propuso formar parte del equipo de investigación en psicología experimental del IDIM-CONICET, que en ese momento se encontraba buscando tesinistas. En una reunión que se dedicó a tal fin conocí a mi tutora Giselle Katmenetzky y a mi cotutora Andrea Suarez quienes me explicaron en forma más detallada en qué consistían las líneas de investigación en las que se encontraban trabajando. Después de que me habían elegido para formar parte del equipo y escuchar su propuesta, decidí optar por la línea de ontogenia relacionada con ratas neonatas y el aprendizaje olfatorio, ya me parecía interesante por tratarse de un estudio en etapas tempranas, en el cual podría profundizar mi conocimiento acerca del origen de varios procesos biológicos y psicológicos desde una perspectiva científica.

Desde el principio me sentí muy motivada y feliz de ser parte del proyecto, era algo nuevo para mí y en cada reunión encontraba los contenidos aún más fascinantes. En ese entonces me encontraba asistiendo como pasante al área de psiconeonatología de Fundación Hospitalaria, por lo cual relacionaba constantemente los contenidos de la investigación con mi propia experiencia y me daba cuenta de que resultaba trascendental generar estudios que respalden esas observaciones. En ese sentido les agradezco infinitamente a Giselle y Andrea que siempre estuvieron apoyándome, guiándome y conteniéndome durante todo el proceso, sobre todo cuando algo se me dificultaba, por transmitirme sus conocimientos e impulsar en mí la curiosidad y las ganas de investigar constantemente, de leer a profundidad artículos que después compartíamos y analizábamos en los seminarios con todo el equipo, a través de un enriquecedor intercambio en el que se generaban nuevas ideas y una mejor comprensión de los textos.

Fue una muy linda experiencia formar parte de un gran equipo, que entendió mis crisis y me ayudo a tramitarlas como oportunidades para seguir

avanzando. Agradezco también a todos mis profesores que a lo largo de la carrera contribuyeron a mi formación de manera integral y siguieron fomentando en mí la pasión por la psicología como pilar para mi crecimiento personal y profesional.

Finalmente agradezco a mi familia, a mi Abuelo por ser mi principal motivo para seguir soñando, a mis abuelas, padres y hermano por ser una gran fuente de apoyo e inspiración desde Ecuador, por demostrarme que la distancia no es pretexto para estar unidos y por ser siempre el motor de todos mis sueños y proyectos. A mis amigos ecuatorianos y argentinos, por ser como mis hermanos, compartir mis triunfos y hacerme entender que tanto en Quito como en Buenos Aires, rodeada de grandes personas, siempre me voy a sentir como en casa.

**Financiación.**

Esta tesina fue parcialmente financiada por subsidios otorgados por la Agencia de Promoción y Desarrollo de la Secretaría de Ciencia y Técnica, el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y la Universidad Abierta Interamericana (UAI).



## **Introducción:**

Durante las etapas tempranas del desarrollo e incluso antes del nacimiento, las especies altriciales necesitan de un cuidador que les brinde calor, protección y alimento. Por ello, la conducta de prensión y succión al pezón materno, universal y característica en los mamíferos, resulta indispensable para la supervivencia del neonato (Teicher & Blass, 1980.) Esta conducta no se trata de un reflejo estático sino que está guiada por claves olfativas, táctiles y gustativas, moduladas por aprendizajes prenatales y neonatales (Teicher & Blass, 1980; Sullivan, 2010).

Se ha observado en varias especies de mamíferos humanos y no humanos, que el feto es capaz de realizar diversos aprendizajes sensoriales. Tanto en humanos como en ratas, los estímulos olfativos son los principales determinantes de la conducta de succión durante los primeros días de vida (Teicher & Blass, 1976; 1977; Varendi, Porter, & Wimberg, 1994). El recién nacido reconoce el olor de las sustancias que habían estado presentes en el líquido amniótico, ingeridas por su madre durante la etapa gestacional, lo cual le facilita la adaptación al ambiente y modula las primeras conductas de succión (Menella 1995, Schaal, Marlier, & Soussignan, 1998). En ese sentido, la proximidad del bebé con su madre inmediatamente después del nacimiento es fundamental ya que el contacto físico y la lactancia materna facilitan la transición de la vida prenatal a la neonatal y ayudan al neonato a sentirse más seguro en situaciones de estrés (Ludington-Hoe & Morgan, 2014).

Además de los aprendizajes prenatales, en los primeros días de vida las experiencias olfativas con el pezón y la leche resultan fundamentales para el inicio, la expresión y el mantenimiento de la conducta de succión (Petrov, Varlinskaya, Bregman, & Smotherman, 1999). Asimismo, durante esta etapa el neonato es sensible al aprendizaje de nuevos olores, el cual está impulsado por la necesidad de mantener el calor, sentirse resguardado y bien alimentado (Sullivan, 2003).

Esta necesidad de protección y cuidados es la base de la teoría del apego que fue desarrollada por el psiquiatra John Bowlby (1951) en bebés humanos. El autor estudió el vínculo que se infiere de la tendencia del neonato a buscar proximidad y contacto con una figura específica. Su estudio estuvo influenciado

por Konrad Lorenz, quien en sus investigaciones sobre la teoría instintiva con aves mostró que los patos, al salir del cascarón, siguen a la primera figura que ven en movimiento y que los gansos podían desarrollar un fuerte vínculo con la madre sin que mediaran alimentos (Lorenz, 1937).

Para Bowlby (1969), el apego es una conducta instintiva, activada y modulada en la interacción con otros significativos a lo largo del tiempo. Define el apego como un sistema de control, un mecanismo que adapta la conducta a la consecución de fines determinados por las necesidades del momento. Además, considera que los efectos inmediatos y a largo plazo que median la salud mental del niño, son el resultante de una experiencia de relación cálida, íntima y continua entre la madre y su hijo por la cual ambos encuentran satisfacción y alegría (Bowlby, 1988). La teoría del apego tiene actualidad hasta hoy y se considera uno de los más revolucionarios conceptos de los últimos 60 años acerca del desarrollo de los niños. Un enfoque actual nos permite asegurar que un apego seguro con un cuidador estable y continuo, puede asegurar un adecuado desarrollo cognitivo y mental del niño que perdurará hasta la adultez, aun tomando en cuenta riesgos genéticos. Su estudio en psicología es transcendental dado que se ha descubierto que existen ciertas características de nuestro sistema nervioso que nos orientan hacia el apego aún en tiempos de crisis, tristeza, maltrato o necesidad (Moneta, 2003).

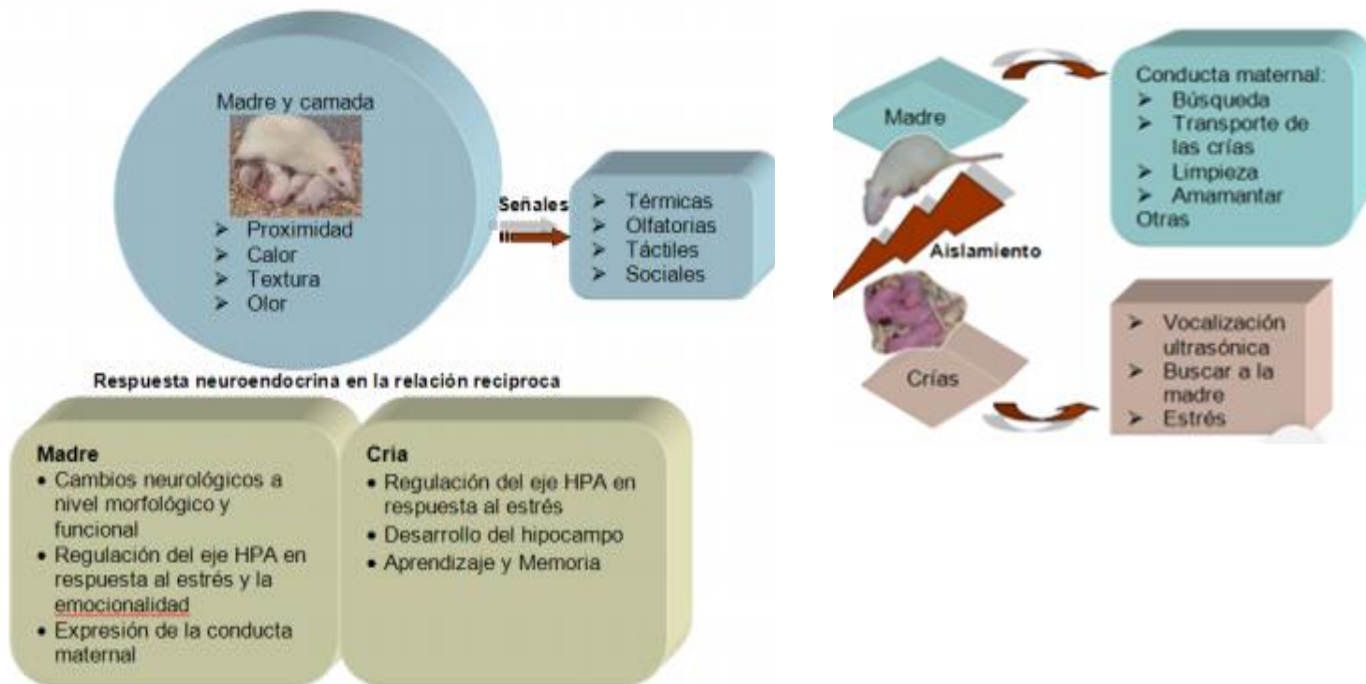
En los seres humanos este proceso se genera cuando él bebe aprende acerca de la voz y los olores de la madre y continúa cuando reconoce su rostro y las cualidades adicionales de sus olores y su voz. Estos factores tienen un rol fundamental como potenciadores de este mecanismo, dado que permiten al neonato orientarse y sentirse seguro al ser capaz de reconocer a su cuidador (Porter & Winberg, 1999; Sullivan & Holman, 2010). Se ha comprobado, por ejemplo, que bebés humanos recién nacidos prefieren lactar de un pecho materno que no ha sido lavado, es decir, que mantiene sus olores naturales, en comparación con el pecho materno que ha sido cuidadosamente higienizado. En un experimento, 22 de 30 bebés que horas después de haber nacido fueron colocados frente a su madre, eligieron el pecho sin lavar al momento de lactar. Estos resultados sugieren que una limpieza de rutina innecesaria en el pezón puede interferir con el establecimiento de una lactancia materna temprana

exitosa, ya que puede ocasionar dificultades en el acceso del niño a señales químicas biológicamente relevantes (Varendi et al., 1994).

Dadas las restricciones éticas que existen en la investigación con humanos, esta capacidad conductual y emocional de formar un vínculo selectivo, único y duradero de la cría hacia la madre y de la madre hacia la cría (Bowlby, 1958), ha sido estudiada a través de modelos animales. En diferentes investigaciones se halló que estas conductas también se manifiestan en otras especies. Experimentos con polluelos, por ejemplo, ilustran la formación de búsqueda de proximidad con el cuidador a pesar de ser sometidos a considerables abusos por parte del mismo. Durante la impronta, los polluelos siguen a su madre, incluso mientras están siendo sometidos a descargas eléctricas leves (Hess, 1973). Un trabajo similar en perros jóvenes, mostró que los cachorros adquieren un fuerte apego a un cuidador que proporciona caricias y al mismo tiempo descargas eléctricas o golpes moderados (Harlow & Harlow, 1966). Este fenómeno se extiende a primates no humanos y niños víctimas de abusos, quienes también suelen manifestar apego frente a cuidadores abusivos. La hipótesis es que este sistema evolucionó en los animales altriciales, para facilitar la formación de un repertorio de comportamientos que aseguren la búsqueda de proximidad al cuidador para garantizar su supervivencia, aun cuando el cuidado recibido es defectuoso. En ese sentido, independientemente de la calidad del cuidado que la madre le provea a su cría, ésta no desarrollará miedo ni aversión hacia ella, siempre y cuando los estímulos aversivos presentados sean moderados (Lander & Sullivan, 2012).

A través de estos estudios se determinaron los procesos conductuales y neurobiológicos implicados en este fenómeno. Harlow (1970), utilizando un modelo animal en roedores, describió la formación del vínculo madre-cría y los mecanismos que intervienen en el mismo (Figura 1) como el procesamiento sensorial de señales olfatorias y sus complejas respuestas motoras, tales como conductas de limpieza, acicalamiento y protección, entre otras. Otros autores también destacan los procesos cognitivos ligados a las señales sensoriales y respuestas motoras, como la atención, la memoria, el reconocimiento social, la motivación y el aprendizaje (Insel & Young, 2001; Walker et al., 2000)

**Figura1.** Representación esquemática de la relación madre-crías (López et. al., 2008).



Varios estudios con ratas neonatas remarcan la importancia de los aprendizajes de olores en el establecimiento de conductas de apego (Cheslock, Sanders, & Spear, 1990; Nizhnikov, Petrov, Varlinskaya, & Spear, 2002; Sullivan, Landers, Yeaman, & Wilson 2000). Sullivan et al. (2000) reportan que las crías de ratas continúan prefiriendo un olor, a pesar de haber sido previamente apareado a un estímulo aversivo moderado (i.e. descarga eléctrica 0.5 mA). Este fenómeno ocurre durante el período sensible para el aprendizaje de olores, que se desarrolla durante los primeros 10 días de vida de la rata. El aprendizaje sensorial en esta etapa está sustentado por un mecanismo adaptativo de protección, caracterizado por una hiporresponsividad al estrés que le permite al neonato prevenir el desarrollo de una aversión hacia el cuidador ante conductas propias del cuidado en el nido (e.g., pisotones por parte de la madre) con el fin de garantizar su supervivencia (Moriceau & Sullivan, 2005). Esta hiporresponsividad resulta de la combinación de una hipofuncionalidad de la amígdala (principal estructura cerebral implicada en el procesamiento del miedo y aprendizajes aversivos) y bajos niveles de corticosterona (hormona liberada en situaciones de estrés) en sangre (Levine, 2001).

Las investigaciones mencionadas anteriormente se vieron facilitadas por la comprensión de los mecanismos de los aprendizajes olfatorios, dado que se descubrió que la estimulación sensorial proveniente del contacto con la madre funciona como un potente estímulo incondicionado en el aprendizaje de olores provenientes del nido. Es decir, que por medio de la simulación de las condiciones en las que se realiza el aprendizaje olfativo natural de olores en el nido, las ratas neonatas también pueden ser condicionadas a olores artificiales (Cheslock, Varlinskaya, Petrov, & Spear, 2000). En ese sentido resultó fundamental el uso de un instrumento adecuado para estudiar los comportamientos de ingesta en crías de rata que permita el consumo voluntario de sustancias de manera similar a la de un pezón natural. En esa dirección, Petrov, Varlinskaya y Smotherman, (1997) desarrollaron un pezón artificial compuesto principalmente por una tetina, construida con un material suave y flexible (látex), adosada a una jeringa para la contención de los fluidos. Los autores reportaron que ratas neonatas ante una experiencia de succión mediante un pezón artificial son capaces de generar una respuesta de agarre y consumir las soluciones que contiene el mismo. Esto sucede cuando la cavidad oral de la cría entra en contacto con el extremo de la tetina de látex y ésta es oprimida con la boca, creando una presión que le permite succionar e ingerir el contenido de forma voluntaria.

Varios estudios muestran que la pre-exposición a un olor neutro incrementa los movimientos de las extremidades y la conducta de agarre hacia un pezón artificial, en presencia de dicho olor. Ratas pre-expuestas entre las primeras horas de vida a un olor neutro (i.e., limón) mostraron un aumento en la actividad motora y una disminución en la latencia de agarre hacia el pezón artificial, en comparación con ratas que no habían tenido experiencias previas con olores (Miller & Spear 2009; 2010).

Utilizando este método se ha demostrado que el valor hedónico de un reforzador aversivo puede ser modificado al ser apareado con un olor pre-expuesto neutro. En un estudio de nuestro laboratorio, ratas pre-expuestas a olor a limón inmediatamente después del nacimiento incrementaron la frecuencia y duración de agarre a un pezón artificial así como el porcentaje de ganancia de peso cuando éste contenía una solución aversiva (i.e., quinina al 0.1%) en presencia de dicho olor, en comparación con un grupo control que no fue pre-

expuesto al limón. A su vez, se observó una disminución del tiempo de latencia al primer agarre en el grupo pre-expuesto. Estas diferencias desaparecieron al utilizar una solución aversiva de mayor concentración (i.e., quinina al 0.2%). Los datos sugieren que podría haber un mecanismo que afecte esencialmente al olor apareado con estímulos aversivos, dado que cuando se les dio una solución apetitiva como sacarina, no se observó este incremento de conductas (Kamenetzky, Suárez, Pautassi, Mustaca, & Nizhnikov, 2015). Se realizó un estudio posterior con el objetivo de evaluar si los resultados hallados con un olor neutro se generalizaban a un olor biológicamente relevante, como el olor a madre. Datos no publicados mostraron que ratas de 4 días postnatales (DP) incrementaron el consumo de quinina en presencia del olor materno (se colocaba junto a la cría la madre anestesiada, de tal modo que se pudiera percibir su olor, pero no tener contacto físico), en comparación con el grupo control no expuesto al olor materno durante el test.

### ***Aprendizajes sensoriales con alcohol***

En los últimos años, varias investigaciones con modelos animales evaluaron este efecto en relación a tempranas exposiciones al alcohol y se comprobó que las claves quimio-sensoriales del alcohol y sus efectos incondicionados producen respuestas posteriores de búsqueda y consumo de esta sustancia en ratas, como resultado de la exposición a la misma tanto a nivel prenatal como posnatal (Molina & Chotro., 1991; Sanders & Spear; 2007; Cheslock et al., 2000). Por ejemplo, en un experimento se observó una ingesta etílica exacerbada en ratas infantas criadas por madres que habían sido expuestas al alcohol tanto pre como postnatalmente (Pueta, Abate, Spear, & Molina, 2003). En otro estudio, Pepino, Abate, Spear y Molina (2004) indican que las crías de rata que fueron amamantadas por una madre intoxicada con etanol (2.5 g/kg) durante sucesivos días postparto, mediante administración intragástrica, mostraron un aumento en la ingesta de esta sustancia, en relación a un grupo control en el que a la madre se le administró agua.

Por otro lado, tomando en cuenta que el consumo de alcohol antes de la lactancia materna modifica las cualidades sensoriales de la leche y altera el comportamiento de la succión del lactante, en un experimento se comprobó que la pre-exposición al alcohol aumenta las respuestas de succión hacia un pezón

artificial que contenía leche en ratas recién nacidas (Petrov, Varlinskaya, Bregman, & Smotherman, 1999). El pezón artificial fue usado en este estudio dado que es una técnica que permite control estricto sobre las condiciones experimentales y proporciona ventajas metodológicas al momento de evaluar los efectos agudos del etanol sobre las conductas de ingesta y agarre (Petrov et al., 1997; Smotherman, Goffman, Petrov, & Varlinskaya, 1997).

Utilizando esta técnica, las crías expuestas a agua, leche o diferentes dosis de etanol (1, 2, 3 g/kg) vía intragástrica en el DP0, fueron testeadas a través del pezón media hora después de haber recibido la administración. Se comprobó que las ratas que fueron expuestas al alcohol y en una segunda fase fueron testeadas con un pezón artificial que contenía leche, mostraron un incremento en el consumo de leche cuando recibieron la dosis de 1g/kg en comparación con las expuestas a agua ó leche. Las crías tratadas con 3 g/kg de etanol mostraron menos respuestas en la conducta de succión. Se concluyó que la exposición de la cría a grandes cantidades de etanol previo a la alimentación disminuye el consumo de leche y puede alterar la interacción madre-cría. Por el contrario las crías que reciben una dosis moderada de etanol muestran una exacerbación en el consumo de leche (Cheeslock et al. 2000).

Hayashi y Tadokoro (1985) investigaron la incidencia de experiencias repetidas con etanol durante la infancia sobre posteriores patrones de aceptación y consumo oral del psicotrópico. Los investigadores reportaron que hubo un incremento significativo en la ingesta de una solución etílica en ratas de DP 120 a las que se había administrado alcohol repetidamente durante los DP 6 a 12. Una fase de pre-exposición etílica de similares características fue utilizada en un estudio conducido por Molina, Domínguez, López, Pepino, & Faas (1999). Este trabajo replicó el hallazgo de una ingesta etílica exacerbada en función de la experiencia previa con la droga. Asimismo, controles pertinentes permitieron concluir sobre la especificidad del efecto de pre-exposición a la droga, ya que los animales no exhibieron un consumo diferencial frente a soluciones no etílicas, tales como sacarosa, quinina o agua. Más aún, se observó que la cantidad de alcohol consumido estaba directamente relacionado con la magnitud de la pre-exposición etílica. Estos resultados indican que la vulnerabilidad a la droga está altamente relacionada con la exposición etílica temprana. Si las mismas poseen efectos tan determinantes sobre su consumo posterior, se convierte en prioritario

elucidar cómo los infantes procesan al etanol en términos hedónicos, así como también indagar acerca de las implicancias motivacionales en la adquisición de aprendizajes en esta etapa ontogenética. La utilización de modelos animales ha sido y continúa siendo fundamental en la búsqueda de respuestas a estos interrogantes.

Resulta de gran importancia conocer las particularidades del aprendizaje olfatorio durante la ontogenia dado que los mismos pueden influir en etapas posteriores de la vida. En este sentido es trascendental el uso de un modelo ecológico con animales que denote la relación de apego inicial facilitado por el olor materno y su influencia respecto al aprendizaje y la preferencia del olor-sabor a alcohol en los primeros días de vida. Tal estrategia puede darnos pautas de la existencia de una interacción entre sabores y olores en esta etapa del desarrollo, que no ha sido explorada previamente. En esa dirección, resultó novedoso evaluar el efecto de la presencia del olor materno sobre las respuestas hacia un pezón artificial que contiene una sustancia que emula el sabor del alcohol en ratas neonatas. Por ello, en la presente investigación el objetivo principal fue comprobar si es posible que el olor materno (OM) al que las ratas fueron pre-expuestas, modifica el valor hedónico de un estímulo gustativo como el alcohol (cuyo sabor está compuesto por sacarosa y quinina) durante las primeras experiencias de succión frente a un pezón artificial.

La relevancia de este estudio radica en que en la actualidad, en el área de las adicciones, existe un creciente interés por comprender los efectos y mecanismos de la influencia del consumo de alcohol en el desarrollo de recién nacidos humanos, así como el de generar modelos que mejoren los tratamientos hospitalarios de bebés internados con alguna patología derivada del consumo del alcohol.



## Capítulo I

### **1. Aprendizajes sensoriales en humanos**

Los estudios pioneros de Spitz demostraron en los años '40 que el contacto y cuidado humano era tan necesario para la supervivencia de los bebés como el alimento o el abrigo (Spitz, 1945). La primera impronta sensorial para el reconocimiento entre madre e hijo ocurre en el útero. En el medio uterino el feto está expuesto a una rica variedad de estímulos, entre ellos a estímulos quimio-sensoriales (Lecanuet & Schaal, 1996). El fluido amniótico que rodea al feto baña la cavidad oral, nasal y faríngea, y es ingerido e inhalado por el feto (Fifer & Moon, 1995). La cavidad amniótica contiene olores que la hacen distintiva y durante el tercer trimestre de gestación ya son perceptibles por el feto humano. Estos estímulos olfatorios que detecta el bebé provienen de la dieta materna y constituyen una fuente importante de estimulación prenatal (Mennella, Johnson, & Beauchamp, 1995). Los olores aprendidos durante el período prenatal son reconocidos y modulan los aprendizajes posteriores.

Mediante un análisis químico se comprobó que tanto el líquido amniótico como el calostro y la leche materna contienen de manera constante ocho ácidos grasos (i.e; ácido láurico, mirístico, palmítico, palmitoléico, esteárico, oleico, elaidico y linoleico) que podrían conformar un continuo de claves olfativas que permitiría la orientación del infante hacia su madre. Recién nacidos fueron expuestos a algodones empapados en su propio líquido amniótico, una mezcla sintética de ácidos grasos y agua destilada como estímulo neutro. Se evaluó la frecuencia de movimientos de orientación de la cabeza hacia alguno de los hisopos empapados de estos olores en 11 bebés recién nacidos (18-24 días) y se demostró que los movimientos hacia el hisopo impregnado con la mezcla sintética de ácidos grasos y de líquido amniótico fueron mayores en comparación al que contenía agua destilada. No se encontraron diferencias significativas en la frecuencia de movimientos de orientación hacia el hisopo del líquido amniótico y el de la mezcla de ácidos grasos. Estos datos sugieren que esos ácidos grasos pudieron haber establecido en el feto un aprendizaje temprano durante la vida intrauterina y que, después del nacimiento, le permitirían al bebé reconocer otros líquidos (calostro, leche materna) que también contienen esos ácidos grasos y

que son fundamentales para su supervivencia alimentaria (Díaz-Marte, Gutiérrez-García, Mendoza-Lopez, & Contreras, 2010).

**Figura 2:** Procedimiento de doble elección para la exposición de los ácidos grasos sintéticos, líquido amniótico o agua destilada (Díaz-Marte et al., 2010).



Un estudio similar reportó que a los 2 días de vida los bebés presentan mayor frecuencia de orientación de la cabeza hacia olores familiares (i.e., líquido amniótico, calostro y leche materna) a los que estuvieron expuestos naturalmente en la etapa prenatal. Cuando estos olores fueron presentados mediante una prueba de preferencia versus un estímulo control (i.e., agua destilada), los lactantes orientaron sus cabezas mayoritariamente hacia estos estímulos conocidos, en comparación con los desconocidos (Schaal, Marlier, & Soussignan, 1998). En otro experimento, se sugiere que bebés de 3 días de edad prefieren el olor al líquido amniótico de sus madres que al de otras madres. Sin embargo, a los 4 días si bien continúan atraídos por los estímulos prenatales, muestran preferencia por el olor de la leche materna (Marlier et al., 1998).

Estas experiencias tempranas afectan la preferencia posterior hacia los alimentos (Mennella, Jagnow, & Beauchamp, 2001; Schaal, Marlier, & Soussignan, 2000). Por ejemplo, bebés de madres que consumieron caramelos con sabor a anís durante los últimos meses de embarazo, despliegan mayor cantidad de respuestas de orientación hacia este olor en comparación a un olor diferente o en relación con bebés cuyas madres no incorporaron esta sustancia durante el embarazo. Los bebés cuyas madres no habían consumido anís

realizan mayor cantidad de respuestas de rechazo hacia su olor que los bebés familiarizados con esta sustancia en útero (Schaal et al., 2000).

Por otro lado, algunos estudios sugieren que los alimentos ingeridos por la madre durante la lactancia, pueden modificar las respuestas hacia el pecho materno. Por ejemplo, en un experimento se investigó si el consumo de ajo por parte de la madre dos horas antes del amamantamiento, modifica los comportamientos de succión del bebé (Mennella & Beauchamp 1991). Se observó que bebés de madres que habían comido cápsulas de ajo antes de lactancia mostraban una mayor conducta de succión en relación a niños cuyas madres consumieron cápsulas sin sabor. Sin embargo, cuando el consumo de ajo fue repetido, el efecto no se expresó (Mennella & Beauchamp, 1993). Los autores consideran que el aumento en la conducta de succión podría deberse al consumo de ajo en la dieta de las madres durante el embarazo, lo que sugiere que la exposición a ciertos alimentos en etapas muy tempranas del desarrollo afecta el consumo posterior de los mismos. Sin embargo, esto varía dependiendo de la intensidad del estímulo recibido. Los autores también sugieren que los resultados pudieron deberse a la influencia de los atributos sensoriales de la leche materna en los patrones y la duración de la conducta de succión. Finalmente, mencionan la posibilidad de que los bebés del grupo que fue expuesto repetidamente al ajo durante 3 días inmediatamente anteriores a la prueba, fueron menos capaces de detectar el ajo en la leche de la madre, ya que se habían adaptado de olor o la repetida exposición a un olor pudo haber resultado en una supresión relativa de la intensidad percibida de ese olor, presumiblemente debido a que los receptores olfativos estaban fatigados.

En los seres humanos también existe un período sensible que dura hasta aproximadamente los 4 meses. Durante esta etapa, se observa que sabores amargos y/o agrios son aceptados por los bebés mientras que si se los experimentan por primera vez en etapas posteriores resultan aversivos. Algunos trabajos indican que bebés que fueron alimentados con hidrolizado de proteína (leche de fórmula de sabor agrio indicada a bebés que no toleran las proteínas de la leche regular) durante esta fase consumieron cantidades considerables a pesar del sabor desagradable de este alimento. Sin embargo, los que tenían más de 5 meses de edad rechazaban dicha fórmula (Beauchamp & Mennella, 2011; Mennella & Beauchamp, 1996).

Algunos estudios muestran que estas memorias tempranas en el infante pueden hacerse evidentes en ulteriores momentos del desarrollo. Se evaluó a niños de edad preescolar que degustaron una gran variedad de jugos, cada uno caracterizado por diferentes niveles de dulzura y acidez. Los investigadores encontraron que los niños que habían consumido fórmulas de hidrolizado de proteína cuando eran bebés, preferían concentraciones más altas de ácido cítrico en el jugo en comparación a niños que habían utilizado una fórmula diferente durante la misma etapa. A su vez, estos últimos eligieron jugos más concentrados en azúcares (Liem & Mennella 2002). Un estudio similar mostró que los niños que habían consumido las fórmulas a base de soja también mostraban preferencia por un jugo de sabor amargo (Mennella & Beauchamp, 2002).

Estas investigaciones reflejan que ya desde la vida fetal, es posible a través de los sistemas olfativo y gustativo detectar y formar memorias con información proveniente del medio prenatal. A su vez y complementado con las experiencias producidas en la etapa posnatal, nos habla de una serie de aprendizajes sensoriales que son fundamentales para el desarrollo, ya que establecerán las primeras preferencias frente a olores y sabores y modularán las conductas de ingesta en etapas posteriores.

### **1.1 Aprendizajes sensoriales con olores y sabor a alcohol en niños y bebés**

Como se mencionó previamente, las claves quimio-sensoriales presentes en el líquido amniótico juegan un rol preponderante en la orientación de las primeras respuestas neonatales. El alcohol constituye una clave sensorial que baña el líquido amniótico materno donde el feto se desarrolla. La exposición al alcohol durante el temprano desarrollo puede tener efectos teratogénicos en el plano físico y neurocomportamental (Faas, 2012). Existen evidencias de que las estructuras olfatorias responsables de la detección de olores son ya funcionales durante el último trimestre de gestación (Schaal, Orgueur, & Rognon, 1995). Existen numerosos trabajos que argumentan en favor de la capacidad fetal y neonatal de responder y discriminar a distintos estímulos olfatorios. Si se baña, por ejemplo, uno de los pechos maternos con fluido amniótico, el bebé preferirá succionar del pecho así tratado frente al otro pecho que conserva su olor natural (Varendi, Porter, & Winberg, 1996).

Resultados similares se encuentran ante la ingesta etílica. Bebés humanos recién nacidos cuyas madres consumieron alcohol durante la gestación, exhiben respuestas de orientación hacia un algodón empapado en alcohol en contraste a lo expresado por bebés de madres que no habían consumido la droga (Molina & Spear, 2001). En un estudio longitudinal realizado por Baer, Barr, Bookstein, Sampson y Streissguth (1998) en el cual 439 familias y sus niños fueron evaluadas en relación a su historia familiar y gestacional de alcoholismo, en tanto que el consumo de alcohol de los hijos fue seguido hasta la adolescencia, se halló que la exposición prenatal al alcohol fue un mejor predictor del uso adolescente de la droga que la historia familiar de problemas con el alcohol.

Por otro lado, se realizaron una serie de estudios para evaluar el mantenimiento de la memoria prenatal de las claves sensoriales del alcohol y el contenido hedónico con que la misma se expresaba. Se evaluaron los comportamientos de niños de 2 semanas de vida ante la presentación repetida de alcohol y limón. Se conformaron 2 grupos de bebés, los nacidos de madres bebedoras frecuentes o sociales y los de bebedoras infrecuentes. De manera similar a lo encontrado a las 48 hs. de vida, bebés de 2 semanas nacidos de bebedoras frecuentes aumentaban significativamente su actividad, en particular movimientos y gesticulación del rostro, en comparación con los nacidos de bebedoras infrecuentes cuando se presentaba el olor del alcohol. Este efecto no se verificaba cuando se presentaba el olor a limón (Figura 3.)

**Figura 3 (Faas et al, 2012)**



Para analizar el contenido hedónico de esta memoria se consideró la gesticulación facial según un *Sistema de Codificación Facial Neonatal* (Oster & Rosenstein, 1998) que califica los distintos gestos faciales en apetitivos o aversivos, de manera muy similar a lo que se observa en el rostro adulto frente a estímulos agradables o desagradables. Dentro de las conductas apetitivas figuran succionar, realizar movimientos linguales y sonreír mientras que las aversivas consistían en la apertura vertical de la boca, fruncir las cejas, apretar fuertemente los ojos y arrugar la nariz. Se encontró que los hijos de bebedoras frecuentes respondían frente al olor del alcohol con un número significativamente mayor de conductas hedónicas apetitivas en comparación con los hijos de bebedoras infrecuentes. Respecto de las conductas aversivas, no se hallaron diferencias significativas entre ambos grupos de bebés. Estos resultados sugieren la posibilidad de que la experiencia intrauterina con alcohol produzca

una memoria sensorial que tendría efectos sobre la aceptación y evaluación hedónica de dicha sustancia durante la vida posnatal (Faas, , Spontón, Moya. & Molina2000).

Por otra parte, Schaal, Marlier y Soussignan (1995) evaluaron las conductas de orientación de bebés de 7 a 14 días de vida ante el olor a alcohol y limón. En este experimento se utilizó un diseño intrasujeto en el que seleccionó dos grupos (i.e., niños de madres bebedoras frecuentes vs infrecuentes). Los autores diseñaron un dispositivo en forma de "U" invertida que se colocaba alrededor de la porción cefálica del bebé y sostenía en cada extremo gases embebidas en los olores anteriormente mencionados. Esta técnica permitía medir, mediante los giros de la cabeza del niño, la orientación preferencial hacia el olor del alcohol o del limón en función de la exposición prenatal previa. Se realizaron 4 ensayos, durante el primero se presentaba el par olfativo alcohol-limón o limón-alcohol, luego se presentaban dos ensayos consecutivos con gases sin olor y finalmente, otro par olfativo con los olores ubicados de manera inversa que en el primero. Se halló que los bebés expuestos al alcohol en la fase prenatal manifestaban mayor orientación y permanencia de la cabeza hacia la gasa embebida con este olor, en comparación con aquella que había sido embebida con olor a limón. Esto era particularmente observable durante el primer ensayo, independientemente del lado donde se ubicara la gasa con alcohol.

Resulta de gran importancia señalar que las madres que consumen alcohol durante la lactancia exponen a sus bebés a la droga a través de la leche materna. Incluso la cantidad de alcohol presente en el fluido lácteo como consecuencia de la ingesta de una lata de cerveza es detectada por el lactante. Se conoce que la cantidad de alcohol ingerida por un lactante es sólo una pequeña fracción de la que consume su madre, sin embargo esta pequeña cantidad puede tener una serie de efectos sobre el neonato. Por ejemplo, bebés que se encontraban lactando del pecho materno disminuían la ingesta de leche si sus madres habían consumido previamente una dosis de alcohol baja. Doce madres y sus bebés fueron analizados durante dos días por un intervalo de una semana. En cada día de la prueba, la madres bebieron un vaso con jugo de naranja que contenía una pequeña cantidad de etanol (0.3 g/kg). Los bebés fueron pesados antes y después de lactar para evaluar la cantidad de leche que ingirieron, y su comportamiento durante la lactancia fue filmado. Se descubrió

que contrariamente al folklore que afirma que el consumo de alcohol durante la lactancia tiene beneficios tanto para la madre y el bebé, los bebés alimentados con leche materna consumieron significativamente menos leche durante las horas inmediatas después del consumo de una bebida alcohólica de sus madres a pesar de que en los primeros minutos el consumo haya aumentado. Estos hallazgos demuestran que la exposición a corto plazo a pequeñas cantidades de alcohol en la leche materna produce cambios distintivos en los patrones de alimentación (Mennella, 1999).

Sin embargo, esta disminución no se explica por un rechazo al sabor de la leche contaminada con alcohol dado que los bebés que son alimentados a través de un biberón, incrementan el consumo de leche si está contaminada con alcohol (Mennella, 1993). Estos resultados sugieren que este medio de exposición temprana al alcohol puede afectar la manera en que el individuo responde a la droga posteriormente; ya sea con un consumo irracional, siendo más o menos susceptible a sus efectos o teniendo mayor probabilidad de encontrar al alcohol como reforzante y, por lo tanto, adictivo (Molina & Spear, 2001).

Estudios previos mostraron que bebés de aproximadamente 128 días, cuyas madres habían consumido alcohol en algún momento del amamantamiento, y a los que se les administró leche de su madre con sabor a etanol por medio de una mamadera, ingerían más de ésta que de la leche que no había sido alterada (Mennella, 1999). En otro trabajo, Mennella y Beauchamp (1996) señalan que bebés de madres que habían consumido alcohol en jugo de naranja previamente a amamantar, aumentaron la frecuencia de succión durante el primer minuto en comparación con el grupo control, cuyas madres sólo bebieron jugo de naranja. Los resultados indicarían que los niños en la temprana infancia son capaces de percibir este sabor y generar preferencias en función de la experiencia previa.

En la serie de experimentos aquí presentados se puede observar que la exposición diferencial al alcohol durante la gestación (consumo social o moderado vs. prácticamente nada de consumo) produciría una respuesta diferencial frente a su olor cuando éste se presenta en la vida posnatal (Faas et al., 2000). Esto indicaría la generación de una memoria fetal del alcohol que se



mantendría hasta la vida posnatal y aparentemente con un significado apetitivo. El bebé tiende a preferir aquellos olores que le resultan familiares, más aún si los mismos provienen de su contexto primario (Schaal et al., 1980).

Este conjunto de estudios señalan que tanto el infante como el feto, incorporan información relacionada a su medio, generando memorias capaces de modular su comportamiento posterior, que pueden llegar a influir sobre la respuesta de succión. Además, a través de la leche materna el infante es provisto de estímulos sensoriales sobre los cuales también es capaz de retener información que se hará evidente en ulteriores momentos de su vida. Sin embargo, los estudios revisados no estudian la relación que existe entre la presencia de un olor pre-expuesto y su influencia sobre el consumo de alcohol.

## **Capítulo II**

### **2. Aprendizaje sensorial en ratas**

El aprendizaje olfativo prenatal es fundamental para la adaptación al medio ambiente postnatal (Hepper, 1988). Como se mencionó anteriormente, uno de los objetivos principales de este aprendizaje es el de mantener la proximidad física con el nido. Al igual que el recién nacido humano, la rata debe guiarse hacia el pezón durante sus primeras experiencias de succión. La exposición al líquido amniótico en el útero durante el parto ayuda al neonato en esta tarea, debido a que contiene estímulos quimio-sensoriales, asociados con el olor materno, hacia los cuales el neonato genera preferencia y reconoce rápidamente en el medio ambiente posnatal (Teicher & Blass, 1977). Estudiar este proceso en base al comportamiento de apego y su regulación fisiológica puede contribuir a explicar la situación paradójica que se da frente a una conducta maternal/paternal abusiva. Bolwby (1969) sostuvo que frente a una conducta abusiva de la figura de cuidado, inicialmente las conductas de apego se incrementan para luego establecerse en un patrón de alejamiento (que puede derivar en distintos estilos de apego). La hipótesis de la función reguladora del apego puede explicar esta respuesta, no solo en función de la ruptura de un vínculo emocional global sino de la desestabilización de aspectos concretos del organismo por la pérdida masiva de reguladores (Hofer, 2001).

Durante el período sensible, que se despliega en los diez primeros días de vida, las ratas muestran preferencias por olores, a pesar de que estén asociados a un estímulo aversivo, como un shock eléctrico de intensidad moderada (Sullivan, Landers, Yeaman y Wilson, 2000). Tal mecanismo resulta indispensable para la supervivencia dado que inhibe la expresión de respuestas de aversión hacia su madre, que en ocasiones expone a las crías a situaciones de maltrato moderado dentro del nido. Este protocolo se estableció como modelo experimental de maltrato infantil (Moriceau & Sullivan, 2005). Se basa explícitamente en dos premisas sobre el apego de Bolwby. La primera, es el desarrollo rápido de la conducta de apego hacia el cuidador y la segunda es la resistencia a extinguir estas conductas aun cuando exista un tratamiento abusivo por parte del mismo.

A nivel neurobiológico, existen una serie de condiciones anatómicas y funcionales en el sistema nervioso central que sostienen estos procesos y que cambian a partir del décimo día de vida, permitiendo que se produzcan procesos significativos de condicionamiento aun cuando las estructuras protagonistas no estén totalmente desarrolladas (amígdala, hipocampo y corteza frontal). En relación al aprendizaje de preferencia por olores, las principales áreas cerebrales implicadas son el bulbo olfatorio y el locus coeruleus. El aprendizaje inicial produce una activación del bulbo olfatorio y su consiguiente modificación estructural. Es decir, se produce un aumento de la cantidad de norepinefrina proveniente del locus coeruleus, que induce la plasticidad necesaria en el bulbo olfatorio para que se produzcan cambios neuronales fundamentales que perduran a largo plazo (McLean & Shipley, 1991). En cuanto al déficit en el condicionamiento aversivo del olor materno, algunos estudios indican que puede relacionarse con la inmadurez de la amígdala así como del limitado funcionamiento del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal que son estructuras encargadas del procesamiento emocional, como el miedo (Moriceau, Shionoya, Jakubs, & Sullivan, 2009). Los autores sostienen que existe una adecuación del desarrollo del sistema nervioso para adaptarse a los distintos ambientes en los que se encuentra la cría. Al principio, cuando se encuentra en el nido y no tiene capacidad de movimiento autónomo, su vida depende de la proximidad con la madre. Por lo tanto, resulta imprescindible mantener la cercanía con el cuidador aun frente a situaciones de maltrato moderado, como mordidas o pisoteos, para asegurar su supervivencia.

Los infantes de especies altriciales son inmaduros al momento del nacimiento y tienen una tasa de olvido más acelerada que la de sus contrapartes adultos (Hartshorn, 1998). Sin embargo, durante los primeros episodios de succión se forman aprendizajes perdurables en el tiempo. Para optimizar el aprendizaje, una de las características esenciales es la contigüidad temporal entre los estímulos. La tendencia del neonato a aprender respecto de estos primeros episodios de succión es tan intenso que incluso es capaz de adquirir aprendizajes asociativos cuando media un intervalo prolongado de tiempo entre los eventos a asociar (Smotherman et al., 1997). Asimismo, la perdurabilidad e inalterabilidad de las memorias conformadas durante este primer episodio alimenticio han sido puestas a prueba recientemente.

Esta hipótesis se estudió en una investigación bajo un esquema de condicionamiento con estímulos olfativos (donde se asocia el alimento con un olor determinado). Se demostró que la retención de la memoria es mayor en aquellos sujetos que reciben entrenamiento unas horas luego del nacimiento, en comparación con ratas entrenadas en el DP 1. Los autores encontraron tanto en los neonatos como las crías de un día de edad, que los aprendizajes se producían independientemente de si el tiempo transcurrido entre el condicionamiento y la evaluación fue breve (1 h) o más prolongado (24 hs). Cuando se entrenó a los sujetos de forma tal de generar dos memorias conflictivas (una apetitiva y una aversiva), no se observó un efecto de interferencia retrospectiva, exclusivamente en los sujetos entrenados el mismo día del nacimiento. Es decir, que la segunda experiencia, contradictoria con la anterior, no afectó lo aprendido en un primer momento. Nuevamente, el resultado se obtuvo independientemente del intervalo de retención (1 o 24 horas). Las crías que fueron entrenadas al día 1 de edad, respondieron en función de la última experiencia de aprendizaje cuando eran evaluadas tras el intervalo corto y según la primera experiencia si el intervalo de retención era de 24 hs. Es decir, cuando los neonatos generaban una memoria asociativa durante el primer episodio de succión, las experiencias ulteriores contrapuestas a este episodio no produjeron olvido respecto de la asociación original (Cheslock, Sanders, & Spear, 2004).

Existen similitudes entre el aprendizaje olfativo prenatal y neonatal. Los fetos y los recién nacidos muestran una extraordinaria capacidad de aprendizaje de preferencia de olores, sin embargo las crías no están exentas de generar aprendizajes aversivos hacia determinados olores o sabores. Varios estudios nos demuestran que esto varía dependiendo de la intensidad del estímulo (Kehoe & Balss, 1986; Stickrod, Kimble, & Smotherman, 1982). Sin embargo, prácticamente no existen estudios que evalúen este fenómeno en relación a la interacción entre olores y sabores en la etapa neonatal.

## 2.1 Aprendizaje prenatal:

Estudios en ratas demostraron que son capaces de generar aprendizajes olfatorios prenatales y que la estimulación quimio-sensorial en esta etapa puede modular las primeras respuestas de succión. En esta fase el feto puede asociar estímulos sensoriales (EC), por ejemplo el olor, con estímulos que por sus efectos pueden ser agradables o desagradables para el organismo (EI). Luego de sucesivos apareamientos EC-EI, la mera exposición al EC inducirá respuestas condicionadas similares a las provocadas por EI. Estos ECs suelen estar presentes en el contexto de amamantamiento (Blass & Teicher, 1980).

En un experimento, un grupo de hembras fue alimentado con dientes de ajo, en el día 15 de gestación. Posteriormente, se evaluaron sus crías en el DP 12 colocando dos platos en una jaula, el primero contenía 10 g de ajo y otro 10 g de cebolla. La posición de estos estímulos se alteraba al azar para cada ensayo. Se observó que las ratas cuyas madres habían consumido ajo cuando estaban preñadas mostraron mayor cantidad de movimientos de su cabeza hacia el olor a ajo (Hepper, 1988). Además, se encontró que las ratas infantiles son altamente reactivas al olor de eucalipto y muestran preferencias hacia este estímulo cuando se ha incorporado en dietas maternas durante la etapa prenatal y postnatal del desarrollo (Terry & Johanson, 1996).

Otros estudios incluyeron la manipulación experimental del ambiente fetal a través de la exposición directa a olores en el líquido amniótico. En un experimento se expuso a fetos de 20 días a jugo de manzana o salina a través de una inyección en el líquido amniótico, seguido de una inyección intraperitoneal de cloruro de litio (sustancia que produce malestar intestinal) o salina, de acuerdo con el grupo. En el DP 10 se evaluó a las crías en una cámara en la que se encontraba una hembra anestesiada con los pezones cubiertos de jugo de manzana. Se halló que el grupo pre-expuesto al jugo de manzana mostró una disminución en la velocidad de aproximación a la hembra en relación al grupo control, lo cual indica que se produjo una aversión aprendida hacia dicho estímulo (Smotherman, 1982).

Algo similar sucede con la exposición a dosis elevadas de alcohol dado que se genera una aversión condicionada hacia la clave predictora de la intoxicación etílica fetal. En un experimento se analizó la preferencia hacia el olor

del etanol en ratas macho adolescentes (observadores) que interactuaron con un compañero intoxicado con alcohol (demostrador), en función de la exposición prenatal al alcohol (días gestacionales 17-20, 1.0 g/kg, intragástrica). Durante la interacción entre el observador y el demostrador, se evaluó la conducta social y la locomoción. Se demostró que la interacción social fue mayor en los observadores que interactuaron con un sujeto intoxicado en comparación con aquellos que interactuaron con un sujeto sobrio. El contacto social aumentó cuando el demostrador estaba intoxicado, solo si el observador había sido expuesto al alcohol durante la fase prenatal. El alcohol inhibió la locomoción en los demostradores. Finalmente, tanto la interacción social con un congénere intoxicado como la exposición prenatal incrementaron la preferencia por el olor a etanol. Se concluyó que el contacto con etanol durante la vida fetal, así como mediante la exposición a un par intoxicado durante la adolescencia, incrementa la preferencia por las claves químico sensoriales de la droga (March et al., 2012). La evaluación de efectos aversivos étlicos también se demostró en otro experimento en el cual ratas infantas fueron administradas con etanol (2.5 g/kg, i.g., EI) y luego expuestas a un sabor novedoso como sacarina (EC). El test consistió en evaluar las respuestas de las crías ante la presencia de sacarina. Los infantas que experimentaban la sacarina en contigüidad con los efectos farmacológicos del etanol mostraban un menor consumo de este EC en comparación con animales controles, no apareados. Hay que destacar que esta aversión puede resultar mucho más visible en ratas adultas que han sido pre-expuestas a dosis más altas del psicotrópico (Pautassi, Melloni, Ponce, & Molina, 2005)

Sin embargo, estudios recientes sustentan la hipótesis que el etanol puede actuar como un reforzador positivo comparable a la leche (Cheslock et al., 2001) o como un estímulo incondicionado apetitivo en esquemas de condicionamiento prenatal (Abate, Spear & Molina, 2002). Por otra parte, la conducta de succión y la obtención de leche como consecuencia de este acto, además de poseer propiedades altamente reforzantes para el neonato, pueden calmar la ansiedad e incluso dar lugar a analgesia (Blass & Fitzgerald, 1988). Lo mismo sucede con el etanol, en función de sus propiedades sedativas (Cheslock et al., 2001). Es posible considerar que el hecho de succionar de un pezón artificial que libere etanol, con la consecuente exposición a las propiedades

sedativas de la droga, pueda contrarrestar la activación de una memoria prenatal aversiva, cuando se presenta la clave orosensorial asociada con el estado de intoxicación etílico materno-fetal (Abate et al., 2002). Si bien el incremento en la respuesta de succión neonatal expresaría un aprendizaje prenatal, cabe la posibilidad de que ante la activación de una memoria prenatal aversiva, el neonato incremente la respuesta de succión evitando de este modo los efectos negativos derivados de dicha activación (March, Abate, Spear, & Molina, 2013).

Pautassi, Acevedo y Fabio (2012), sugieren que la exposición fetal al etanol produce plasticidad quimio-sensorial con respecto a los estímulos novedosos. En este sentido, se comprobó que la exposición gestacional al etanol aumenta la respuesta posnatal de consumo en ratas, aunque se encuentre alterado su sabor y olor cuando es apareado con otra sustancia como la quinina. Se expuso a los fetos al etanol a través de la dieta materna y se encontró que la exposición fetal al etanol aumentó la aceptabilidad del sabor tanto del etanol como del clorhidrato de quinina (amargo) en la etapa posnatal. Es importante destacar que una proporción significativa de aumento de la aceptabilidad del etanol podría atribuirse directamente a una aversión atenuada a la calidad del sabor del etanol mediante la quinina. Los resultados demuestran que la exposición fetal aumenta específicamente la avidez en el consumo de etanol (Youngentob et al., 2008).

Finalmente, los resultados también pueden variar en relación al período en el que se realizó la exposición y el momento en el que se evaluó. Fetos de 21 días gestacionales fueron expuestos a una solución tenue de alcohol o a una solución de limón a través de una inyección de las mismas en el líquido amniótico durante 10 ó 40 min antes del nacimiento. Posteriormente, en el DP 0 los fetos fueron evaluados en términos de cambios en la actividad motora neonatal en presencia del olor a alcohol o a limón. Se comprobó que las ratas que fueron expuestas a alcohol o limón 10 minutos antes de nacer muestran una capacidad de respuesta diferencial frente al olor de esta solución en comparación con el grupo que experimentó la misma solución 40 minutos antes del nacimiento (Molina & Chotro, 1991).

## **2.2 Aprendizaje Posnatal:**

Como se mencionó anteriormente, el desarrollo de una preferencia por los olores maternos se produce en la rata incluso antes del nacimiento y continúa repetidas veces a través del período postnatal temprano, presumiblemente para que el infante se acomode a los cambios inducidos en el olor de la madre, producidos por su dieta (Landers & Sullivan, 2012).

En búsqueda de la caracterización del aprendizaje olfativo se estudió a las ratas neonatas inmediatamente después del nacimiento. Ratas recién nacidas fueron expuestas a un olor (e.i., limón) en diversos períodos de tiempo poco después del nacimiento y se los evaluó dentro 4-5 horas después del parto, en presencia del olor al que fueron pre-expuestas. Se comprobó que independientemente del tiempo en el que se les presentó el olor (0, 1 o 2 horas después del nacimiento) la actividad motora fue mayor entre los neonatos previamente expuestos al olor, en comparación con las crías sin experiencia con el mismo. Del mismo modo, la latencia en el agarre hacia un pezón artificial contenedor de leche, fue menor entre los pre-expuestos al olor a limón, especialmente cuando la exposición al olor comenzó una hora después de la cesárea. Estos resultados sugieren que la experiencia olfativa luego del nacimiento puede dar forma a las respuestas olfativas posteriores (Miller & Spear, 2009).

A partir del refuerzo que la cría recibe de la obtención de alimento y el contacto materno, se adquieren aprendizajes tempranos capaces de modular la respuesta del organismo en ulteriores momentos del desarrollo. Un ejemplo es la influencia observada de estas experiencias sobre la conducta sexual adulta. Crías de ratas que mamaron y permanecieron con una madre cuyos olores vaginales y del pezón fueron alterados con olor a limón hasta el momento del destete, fueron evaluadas durante la adultez. Los machos fueron apareados con una hembra receptiva normal o con una hembra receptiva cuyo perímetro vaginal fue tratado con el olor cítrico inmediatamente antes de la evaluación. Los machos eyacularon más rápido cuando fueron emparejados con hembras tratadas con limón, que con hembras no tratadas. Este estudio es un ejemplo de la fuerza que poseen los estímulos involucrados en el contexto de lactancia y de la



perdurabilidad de estos aprendizajes, los que se manifiestan incluso durante la edad adulta (Fillion & Blass, 1986).

Por otro lado y en busca de comprobar la eficacia del uso del pezón artificial se observó que crías nacidas por cesárea, muestran conductas de prensión que varían de acuerdo al tiempo transcurrido después del nacimiento. Sujetos evaluados 1 o 3 horas después de la cesárea permanecieron menos tiempo prendidos al pezón e ingirieron menos cantidad de leche que aquellos evaluados transcurridas 5 horas, desde el nacimiento por cesárea. Estas diferencias pueden deberse a los procedimientos de cesárea. Las crías bajo estas circunstancias son privadas de la estimulación propia del nacimiento por vía vaginal y de la estimulación realizada por la madre. Si bien los animales permanecen en incubadora y tienen oportunidad de recibir estimulación por parte de sus compañeros de camada, los evaluados 5 horas después del nacimiento están expuestos a esta estimulación más tiempo que aquellos sujetos que son evaluados 1 o 3 horas después (Smotherman, Petrov, & Varlinskaya, 1997). En este sentido un parto de manera natural permite que la cría esté mucho más expuesta a los olores naturales de la madre y responda de manera más eficaz cuando los reconozca posnatalmente.

En un estudio donde se evaluó el consumo de alcohol en ratas infantiles y adolescentes, las crías que fueron amamantadas por una madre intoxicada con etanol (2.5 g/kg) durante sucesivos días postparto por medio de administración intragástrica, mostraron un aumento en la ingesta de esta sustancia, en relación a un grupo control en el que la madre fue administrada con agua. Este incremento en el consumo se mantuvo aun cuando los animales fueron sometidos a situaciones aversivas, como el cuidado deficiente de una madre intoxicada (Pepino et al., 2004). Esto se debe a que las características de desarrollo del cerebro durante este período de la infancia puede dar lugar a un nivel más fuerte de aceptación de estas situaciones (Moriceau, Wilson, Levine, & Sullivan, 2006; Upton & Sullivan, 2010).

Se ha observado que los neonatos de ratas son altamente sensibles a las propiedades reforzantes del alcohol. Asimismo, presentan una clara predisposición a consumir concentraciones bajas o moderadas de etanol, sin la necesidad de realizar previamente procedimientos de iniciación al consumo

(Cheslock et al., 2001; Petrov et al., 2001; Varlinskaya et al., 1999). Por ejemplo, cuando neonatos de rata recibieron una pequeña dosis de etanol (0.25 g/kg) en contingencia con un pezón artificial que liberaba agua (fluido no reforzante), exhibieron posteriormente un marcado aumento en los tiempos de prensión a este dispositivo artificial (Nizhnikov, Molina, Varlinskaya, & Spear, 2007).

Durante las primeras semanas de vida postnatal, las ratas pueden ingerir grandes cantidades de etanol, en concentraciones altas. Sanders y Spear (2007) evaluaron la ingesta de etanol en ratas lactantes durante las primeras 2 semanas después del parto, así como las consecuencias de la misma para la posterior aceptación de etanol. Cada 48 horas desde el DP 2 al día DP 10 las ratas infantiles tuvieron acceso a 5, 10, 15 o 25% de etanol a través de un procedimiento de alimentación independiente (Consumo en el suelo; COF) o por administración intragástrica. La cantidad de etanol consumida fue igual en las dos formas de administración. A partir del DP 6, las crías ingirieron más solución de etanol que de agua al igual que en los días posnatales 8 y 10, muchos de los cambios en la ingesta de etanol desde el DP 6 se pueden explicar debido a las modificaciones que se producen en la función del sistema de GABA a esta edad. En el DP 12 se evaluó la ingesta de las crías usando la concentración de 15% de etanol, mediante un test de infusión intraoral o COF. Esta experiencia temprana con el etanol aumentó su consumo en el DP 12, particularmente cuando la concentración y el modo de ingestión fueron los mismos que en la fase previa. El incremento en la ingesta de etanol estaría relacionado a sus efectos farmacológicos experimentados previamente.

En resumen, los resultados de este estudio sugieren que los efectos agudos del alcohol sobre la actividad motora general y en la succión son independientes excepto con altas dosis dado que la sedación disminuye la capacidad de la cría para lactar. Y también aluden de manera general a que en el caso de una administración indirecta de etanol al bebé a través de la madre, la supresión el comportamiento de succión podría estar causada por alteraciones de las interacciones madre-hijo, debido a los efectos del etanol directos sobre la madre. En ese aspecto la ingesta del etanol en el contexto de succión puede tener consecuencias potencialmente más duraderas sobre la capacidad de respuesta y aceptación hacia esta sustancia en comparación con otras formas de exposición temprana al etanol en la ontogenia.

Los hallazgos presentados en otro estudio comprobaron que ratas recién nacidas muestran conductas de succión hacia un pezón artificial, cuatro horas después del nacimiento. Se expuso a la crías a concentraciones moderadas de etanol (5, 10,15%) a través de un test con el pezón artificial en que se demostró que las crías presentan más conductas de succión frente a concentraciones bajas de etanol en comparación con concentraciones altas frente a las cuales generaron rechazo. Posteriormente se realizó otra prueba frente a un pezón que contenía leche y etanol y las ratas recién nacidas mostraron patrones similares de succión e ingesta hacia la leche contaminada con etanol. Además, la experiencia inicial con la leche en el primer contexto de succión no impidió la ingesta voluntaria adicional de etanol a partir del mismo pezón. Asimismo, la exposición inicial a etanol al 5% no deterioró la posterior capacidad de respuesta hacia la leche (Varlinskaya et al., 1999). La similitud de los comportamientos lactantes producidos por concentraciones moderadas de etanol y la leche nos sugiere una cierta unidad en sus mecanismos de refuerzo en el contexto del primer episodio de succión.

En otro experimento, se evaluó las respuestas de ingesta y agarre hacia un pezón artificial contenedor de agua, sacarina o etanol (5% y 10%) en ratas neonatas de diferentes edades (i.e. 3-5 h de vida, DP 1 y DP2). En todas las edades, las crías mostraron mayor agarre al pezón artificial cuando dispensaba sacarina o 5% de etanol en comparación a cuando proporcionaba agua. En cuanto a la ingesta de las soluciones se hallaron diferencias de acuerdo a la edad. Los recién nacidos consumieron significativamente más cantidades de solución de sacarina y etanol al 5% en comparación con el agua. Sin embargo, a los DP1 y DP2, solo se halló preferencia por la solución de sacarina. Además se demostró que la pre-exposición a un pezón que proporcionaba etanol o sacarina aumentó la posterior capacidad de respuesta hacia un pezón sustituto vacío (sin fluido), tanto 1 h como 24 h después de la pre- exposición. Aunque durante la pre-exposición, las crías respondieron más positivamente a la boquilla que proporcionaba sacarina, el tiempo más largo de presión hacia un pezón vacío se observó en las crías pre-expuestos a etanol al 10% (Petrov, Varlinskaya, & Spear, 2001).

No se halló en la literatura investigaciones que evalúen el efecto de la pre-exposición a olores sobre las respuestas de consumo de alcohol en presencia

de dichos olores. Una investigación reciente muestra que ratas neonatas pre-expuestas inmediatamente después del nacimiento a un olor neutro (i.e., limón), y evaluadas a las 3 h de vida, presentan un incremento en la frecuencia de agarre, duración, promedio de agarre al pezón artificial, y del porcentaje de ganancia de peso; además de una disminución del tiempo de latencia cuando éste contenía una solución de quinina al 0,1%, en presencia de dicho olor, en comparación con un grupo control que no fue pre-expuesto al olor a limón. Estos resultados no se observaron frente a una solución apetitiva como sacarina, lo cual sugiere que tal efecto es específico ante soluciones aversivas (Kamenetzky et al., 2015).

En base a este antecedente, en esta tesina se evaluó si el valor hedónico de un estímulo aversivo, como una solución que emula el sabor a alcohol (i.e., sacarosa + quinina), puede modificarse en función de la presencia o ausencia de un olor biológicamente relevante al que las crías están naturalmente pre-expuestas (i.e., olor a la madre). Dado que tanto el alcohol como otras drogas lícitas (por ejemplo, los medicamentos) e ilícitas (por ejemplo, marihuana) tienen componentes quimio-sensoriales notables, nuestros resultados tienen amplias implicaciones para la relación entre los patrones de consumo de sustancias, el desarrollo del niño y la vulnerabilidad postnatal.

## Capítulo III

### 3. Descripción del Estudio

#### 3.1 Objetivo general:

Estudiar el efecto de la exposición a olores sobre las respuestas de succión en la temprana ontogenia de la rata.

#### 3.1.1 Objetivos específicos:

Determinar si un olor pre-expuesto biológicamente relevante incrementa el valor de incentivo de un estímulo aversivo. Específicamente, evaluar el efecto de la exposición al olor materno sobre las respuestas neonatales de prensión a un pezón artificial que contiene sabor a alcohol (compuesto de sacarosa y quinina).

#### 3.2 Hipótesis:

La presencia de un olor pre-expuesto biológicamente relevante (i.e., olor materno) produce, en ratas de 3 DP, un aumento de las respuestas hacia un pezón artificial que dispensa una solución con sabor alcohol.

#### 3.3 Sujetos:

Se utilizaron 42 ratas machos y hembras Wistar, provenientes de 6 madres, criadas en el bioterio del Instituto de Investigaciones Médicas (IDIM – CONICET). Los animales nacieron por parto natural y fueron testeados el DP 3.

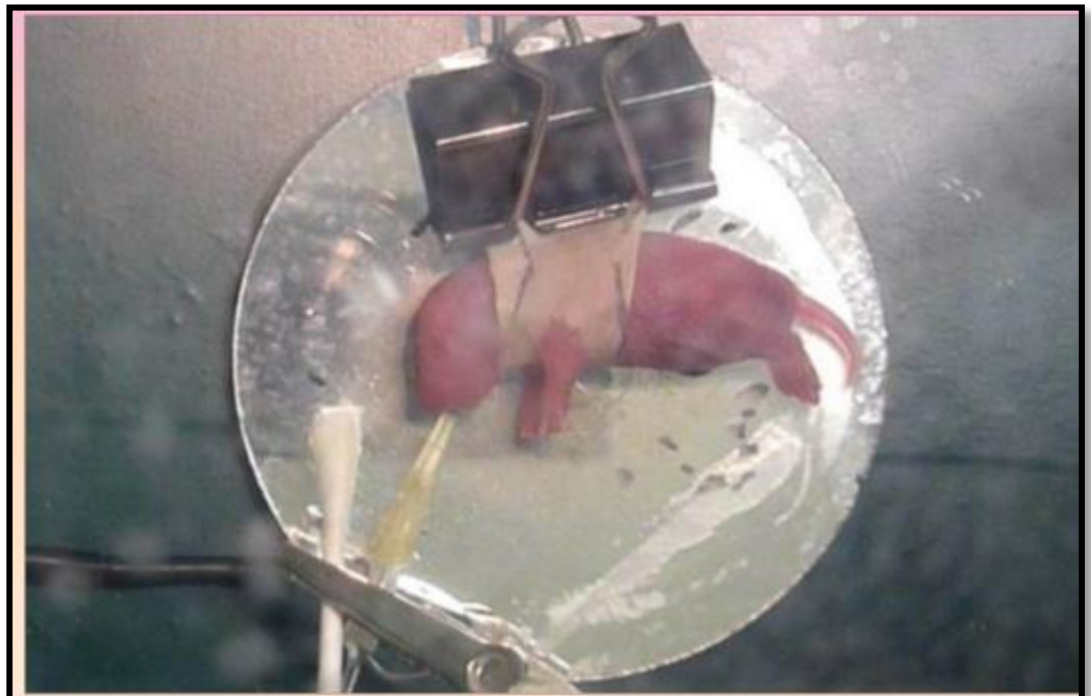
#### 3.4 Instrumentos:

- **Pezón artificial (PA):** El PA está compuesto de una tetina de látex, su longitud es de 25 mm y tiene una perforación de 1mm en la punta. Por dentro la atraviesa una cánula conectada a una jeringa, que funciona como reservorio de los fluidos. Esta jeringa posee un sistema hidráulico abierto mediante el cual la presión negativa que ejerce el neonato sobre el pezón al realizar la conducta de agarre deriva en la obtención de fluido (Petrov, Varlinskaya, & Smotherman, 1997). La base del pezón se encuentra unida con un explorador dental para facilitar la manipulación del mismo por parte del experimentador. El pequeño diámetro de la cánula junto con la viscosidad de fluidos impide el derrame de los mismos y el

sistema hidráulico facilita que la ligera presión realizada por los neonatos durante el agarre sea necesaria y suficiente para extraer fluidos desde el pezón artificial de forma voluntaria (Nizhnikov et al., 2002). La Figura 4 muestra un PA y el set de evaluación.

- Se utilizó una solución que emula el sabor a alcohol la cual se preparó disolviendo 3.24 mg de quinina y 3.42 g de sacarosa en 100 ml de agua destilada.
- Chalecos hechos de látex y broches aprietapapel.
- Incubadoras mantenidas a 35° C (Simen, Industria Argentina).
- 2 almohadillas térmicas.
- 2 espejos redondos (diámetro 10 cm)
- 2 Filmadoras.

**Figura 4. Pezón artificial y set de evaluación.**



### 3.5 Procedimiento:

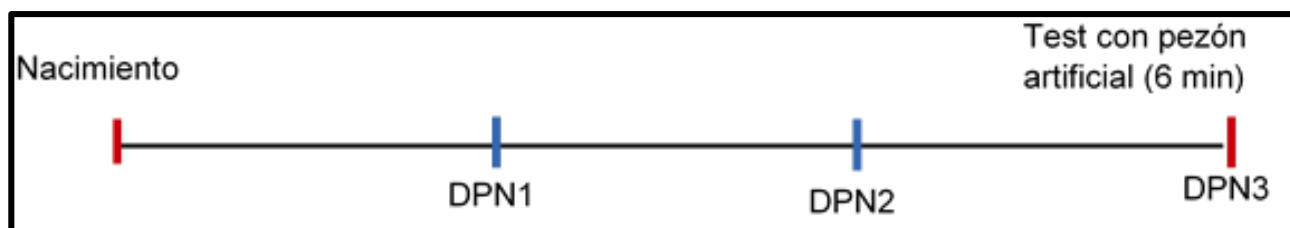
Las ratas nacieron por parto natural y permanecieron con su madre hasta el momento en que fueron testeadas, en el DP3. El olor pre-expuesto utilizado fue el olor materno, dado que las crías estuvieron naturalmente expuestas a él desde el nacimiento. Se utilizó un diseño de dos grupos al azar. Los animales se asignaron al azar a una de dos condiciones experimentales: con exposición al olor materno y sin exposición al olor durante la prueba. Se pesó a las crías antes y después de la prueba para obtener el registro de la medida de porcentaje de ganancia de peso. El test consistió en la estimulación durante 6 minutos de la zona perioral de la cría con el pezón artificial. Una vez que el animal realizaba la conducta de agarre con su boca, podía extraer de forma voluntaria la solución con sabor a alcohol (sacarosa y quinina) contenido en dicho instrumento. La ventaja de utilizar un compuesto que emula el sabor a alcohol es que permite evaluar de una forma más limpia las claves quimio-sensoriales, evitando los efectos incondicionados del alcohol. Durante la prueba la madre se mantuvo próxima a las crías para que pudieran percibir el olor (pero se impidió que tuvieran contacto físico).

Se midieron las siguientes variables dependientes: Frecuencia de agarre al pezón artificial, duración de agarre al pezón, tiempo de latencia hasta la primera respuesta de agarre, duración promedio de las respuestas de agarre al pezón (duración total / frecuencia) y porcentaje de ganancia de peso. Esta última medida se obtuvo mediante la siguiente fórmula  $[(\text{peso post ensayo} - \text{peso pre ensayo}) / \text{peso pre ensayo}] \times 100$ .

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), versión 19. Se realizaron pruebas *t* para grupos independientes para analizar cada una de las variables dependientes. El nivel de significación se estableció en .05.

Las sesiones experimentales fueron filmadas y posteriormente analizadas. La Figura 4 muestra en una línea temporal el lapso transcurrido entre el nacimiento y la prueba. El Cuadro 1 muestra el diseño experimental.

**Figura 5. Línea temporal.**



**Tabla 1. Diseño experimental.**

Grupos	Pre- exposición al olor	Prueba con el pezón artificial en el DP 3 (6 minutos)
Experimental	Olor materno	Olor materno/ Sabor a alcohol.
Control	Olor materno	No olor/ Sabor a alcohol.

### 3.6 Tipo de estudio:

- **Cuantitativo:** Emplea datos cuantitativos para describirlos y poner a prueba hipótesis poblacionales a través de pruebas de estadística inferencial.
- **Experimental:** Existe un alto control de variables.
- **Explicativo:** Busca determinar la causalidad de un fenómeno.
- **Transversal:** Se realizó en un solo momento temporal.



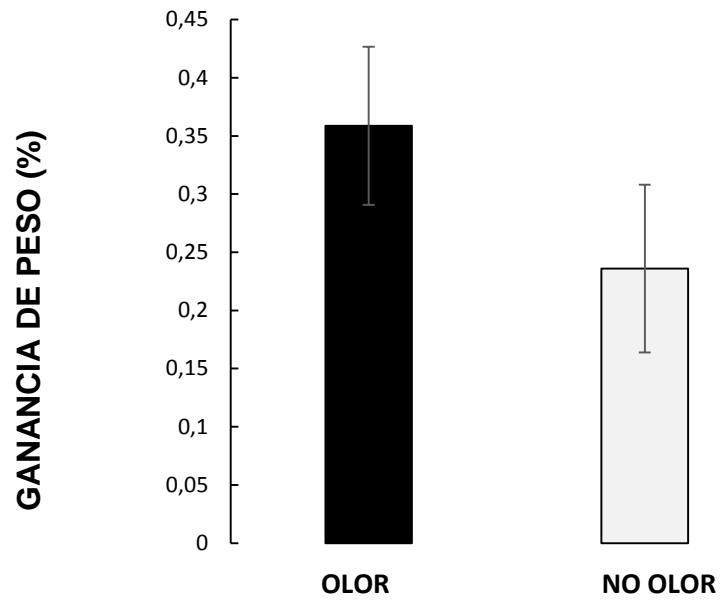
## Resultados:

En la figura 6 se grafica el promedio del porcentaje de ganancia de peso para cada grupo. La figura sugiere que los animales que recibieron la solución con sabor a alcohol (quinina + sacarosa) en presencia del olor materno presentan un porcentaje de ganancia de peso mayor que los que fueron evaluados en su ausencia. Sin embargo, los análisis estadísticos no arrojaron diferencias significativas entre los grupos ( $p > .05$ ).

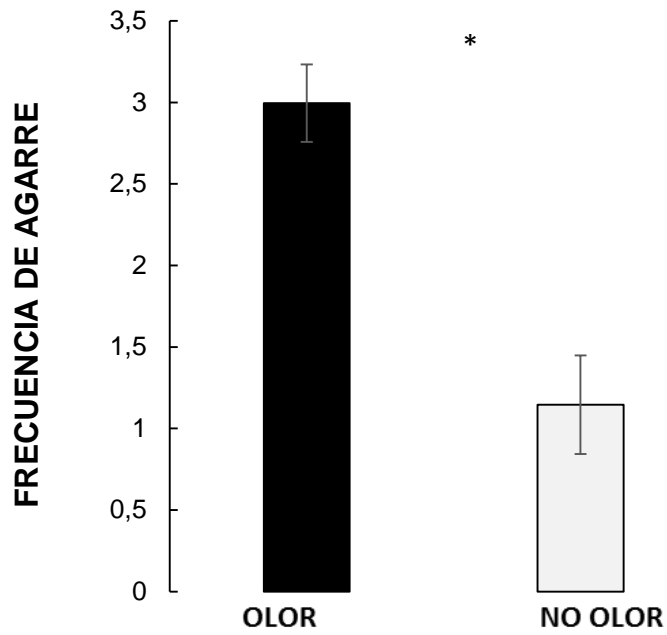
Las figuras 7 a 10 grafican la frecuencia, duración, duración media y latencia de la conducta de agarre al pezón, respectivamente. La inspección de los gráficos para las medidas de frecuencia, duración total y duración media de agarre sugieren que las crías evaluadas en presencia del olor materno se prenden con mayor frecuencia y duración que los animales controles, testeados en ausencia de la madre. Los análisis estadísticos con pruebas *t* de student para muestras independientes confirmaron estas impresiones [frecuencia de agarre:  $t(40) = -5.00$ ,  $p < .00001$ ; duración total de agarre  $t(40) = -6.41$ ,  $p < .00001$  y duración media  $t(40) = -3.32$ ,  $p < .002$ ]

Finalmente, en la figura 10 donde se muestra la latencia hasta la primera respuesta de agarre al pezón artificial para cada grupo, se observa que el grupo experimental presenta una latencia menor en comparación con el grupo control. Los análisis estadísticos alcanzaron la significación estadística para dicha medida [ $t(40) = 5.51$ ,  $p < .00001$ ].

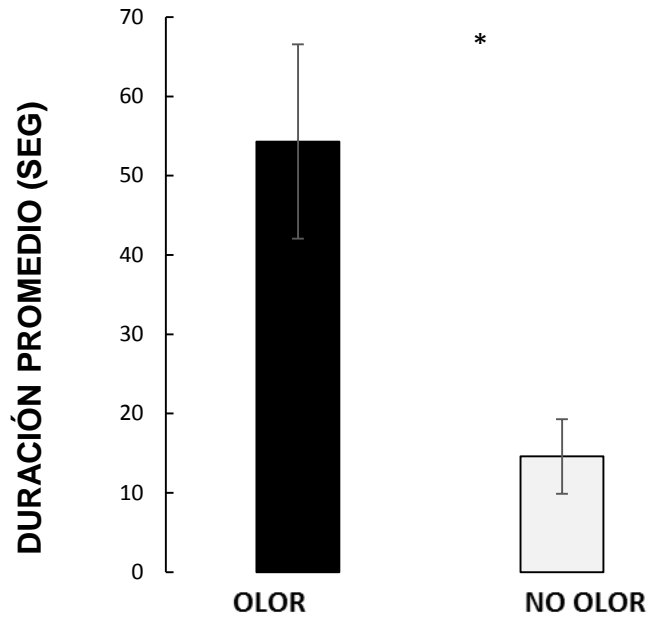
En resumen, los resultados indican que las crías que reciben una solución con sabor a alcohol, en presencia del olor materno, se prenden más rápido, realizan más conductas de agarre y se prenden durante más tiempo al pezón artificial, en comparación a las crías que reciben alcohol en ausencia de la madre. Esto sugiere que la presencia o ausencia de olores biológicamente relevantes durante etapas tempranas del desarrollo, puede afectar la aceptación de sabores novedosos y potencialmente dañinos, como el sabor a alcohol por parte de las crías.



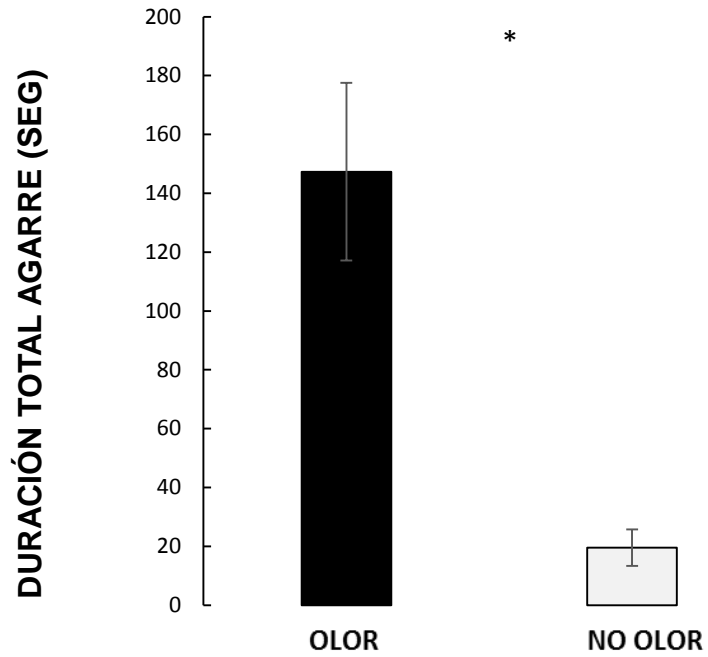
**Fig. 6.** Porcentaje de ganancia de peso (%BWG) para el Grupo Olor (barra negra, n=22) y el Grupo No Olor (barra blanca, n = 20). Durante 6 minutos, se estimuló a los animales con un pezón artificial que contenía un solución de quinina+sacarosa, en presencia o ausencia de la madre. Se muestran los promedios y errores estándares de las medias.



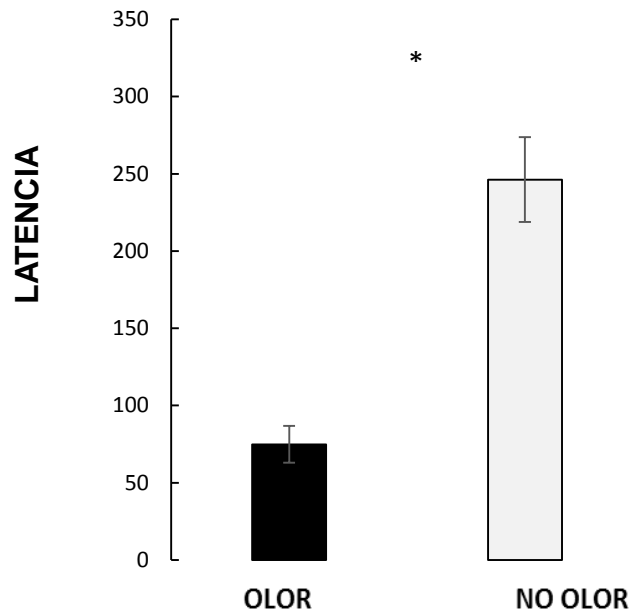
**Fig. 7.** Frecuencia de agarre hacia el pezón artificial para el Grupo Olor (barra negra, n= 22) y el Grupo No Olor (barra blanca, n = 20). Durante 6 minutos, se estimuló a los animales con un pezón artificial que contenía un solución de quinina+sacarosa, en presencia o ausencia de la madre. Se muestran los promedios y errores estándares de las medias. \*  $p < .05$



**Fig. 8.** Medida de duración promedio de agarre hacia el pezón artificial para el Grupo Olor (barra negra, n = 22) y el Grupo No Olor (barra blanca, n=20). Durante 6 minutos, se estimuló a los animales con un pezón artificial que contenía un solución de quinina+sacarosa, en presencia o ausencia de la madre. Se muestran los promedios y errores estándares de las medias. \*  $p < .05$



**Fig. 9.** Medida de duración total de agarre hacia el pezón artificial para el Grupo Olor (barra negra, n = 22) y el Grupo No Olor (barra blanca, n = 20). Durante 6 minutos, se estimuló a los animales con un pezón artificial que contenía un solución de quinina+sacarosa, en presencia o ausencia de la madre. Se muestran los promedios y errores estándares de las medias. \*  $p < .05$ .



**Fig. 10.** Medida de latencia en el agarre hacia el pezón artificial para el Grupo Olor (barra negra,  $n = 22$ ) y el Grupo No Olor (barra blanca,  $n = 20$ ). Durante 6 minutos, se estimuló a los animales con un pezón artificial que contenía un solución de quinina+sacarosa, en presencia o ausencia de la madre. Se muestran los promedios y errores estándares de las medias. \*  $p < .05$ .

## **Discusión:**

Los resultados de esta tesina muestran que las crías de rata incrementaron sus respuestas hacia un pezón artificial que contenía una solución con sabor a alcohol, en presencia del olor materno.

En una investigación previa, Kamenetzky y cols. (2015) mostraron que ante la presencia de un olor pre-expuesto neutro, olor a limón, ratas neonatas incrementaron sus respuestas hacia un pezón artificial que contenía quinina, en comparación con un grupo control no pre-expuesto al olor. Esto no sucedió cuando el pezón artificial dispensaba soluciones con sabor dulce o extremadamente amargos. En este trabajo, se generalizaron dichos resultados a un olor biológicamente relevante (i.e., olor a madre), y hacia una solución que emula el sabor a alcohol (i.e., compuesto de sacarosa y quinina). En conjunto, estos resultados sugieren que en este fenómeno intervienen dos factores fundamentales: la presencia de un olor pre-expuesto y de un sabor amargo.

En las especies altriciales existen mecanismos que facilitan las conductas de apego, debido a que existe gran plasticidad en el aprendizaje sensorial en etapas tempranas del desarrollo. Durante el período sensible, las crías generan un mecanismo adaptativo frente al aprendizaje de nuevos olores y sabores. Este proceso se caracteriza por una hiporresponsividad al estrés frente a estímulos de naturaleza aversiva, lo que les permite a los neonatos adecuarse a los cambios producidos en el nido, garantizando así su supervivencia (Landers & Sullivan, 2012).

Desde la etapa prenatal la alimentación de la madre aporta claves quimio-sensoriales a través del líquido amniótico. Varios estudios indican que durante esta fase se producen los primeros aprendizajes que contribuirán con las preferencias por ciertos olores y sabores en etapas posteriores de la ontogenia (Miller & Spear, 2009, Petrov et al., 2001). Asimismo, estos aprendizajes se continúan a lo largo del período de amamantamiento. Los alimentos que la madre ingiere durante la lactancia brindan información al bebé sobre olores y sabores que resultan determinantes en el establecimiento de las primeras conductas de ingesta (Mennella & Beauchamp, 1991; Mennella & Beauchamp, 1993).

Existe evidencia tanto en humanos como en crías de rata que los aprendizajes sensoriales tempranos modulan una gran cantidad de comportamientos, sobre todo relacionados con las preferencias posteriores en la alimentación, que se ven influenciadas por la experiencia. En un experimento, se observó que el consumo de ajo por parte de la madre en el embarazo modificó los comportamientos de succión del bebé. Se halló que bebés cuyas madres consumieron cápsulas de ajo realizaron más respuestas hacia el pecho materno en comparación de los bebés cuyas madres consumieron píldoras placebo (Menella, 1993). Este estudio presenta una similitud respecto de los resultados de esta tesis. Los bebés que consumen leche con sabor a ajo, un sabor amargo, realizan más respuestas hacia el pecho materno, en comparación con los bebés que lactaron de una madre que había consumido cápsulas de placebo. Estos resultados no se observaron cuando la madre había consumido varias cápsulas de ajo. En esta investigación, los autores no relacionaron las conductas del bebé, con la presencia del olor presente en el contexto de succión (i.e., olor a madre). A la luz de nuestros resultados, podríamos plantear la posibilidad de que el incremento de conductas esté asociado a dicho olor, ya que en esta investigación tenemos los mismos dos factores presentes en nuestro trabajo: la presencia de un olor pre-expuesto, olor a madre, y de un sabor amargo en la leche, proveniente de la cápsula de ajo. Esto nos habla de un aprendizaje que abarca tanto estímulos olfativos como gustativos específicos, presentes en el contexto de succión.

En esta investigación se utilizó una solución similar al sabor a alcohol, lo cual permitió estudiar específicamente las claves quimio-sensoriales de esta droga, sin tomar en cuenta los efectos incondicionados de la misma. Se ha demostrado que experiencias tempranas con el etanol generan un incremento en la afinidad de la búsqueda y/o consumo posterior de la droga, (Chotro, Arias, & Laviola., 2007; Spear & Molina, 2005). Estudios previos mostraron que bebés de madres que habían consumido alcohol de manera frecuente durante la gestación, manifestaban movimientos faciales y de cabeza cuando se les presentaba dicho olor (Faas et al., 2000). Los resultados indicarían que los niños en la temprana infancia son capaces de percibir este sabor y generar preferencias en función de la experiencia previa. En otro estudio, bebés que se encontraban lactando del pecho materno incrementaron la ingesta de leche



durante el primer minuto de succión si sus madres habían consumido previamente alcohol en dosis bajas (Menella, 1991). En esta investigación la autora demostró que si bien los bebés no consumieron diferencialmente la leche de madres que consumieron alcohol en comparación a los de madres que solo tomaron jugo, la conducta de succión si fue diferente en los dos grupos, dado que los bebés de madres que consumieron alcohol tuvieron muchas más respuestas de succión frente al pezón materno. Estos resultados son similares a los encontrados en esta tesina, dado que en los dos estudios la pre-exposición al olor materno, que también estuvo presente cuando se evaluaron las respuestas de los neonatos frente al sabor a alcohol o la leche contaminada, pudo haber influenciado en las respuestas de prensión hacia el pezón.

Se ha comprobado que ratas recién nacidas son susceptibles a las propiedades reforzantes del etanol, esto se debe a sus propiedades farmacológicas más que a sus claves gustativas, olfativas o calóricas (Nizhnikov, 2006). Por esta razón, al usar una solución que emula el sabor a alcohol en este estudio, se pueden separar estas propiedades farmacológicas del valor hedónico del sabor a alcohol y evaluar de mejor manera el efecto que tiene la presencia o ausencia del olor materno sobre la modificación del valor hedónico de esta sustancia y su consiguiente aceptación.

En ese sentido la rata constituye un modelo animal sumamente útil para estudiar estos fenómenos ya que representa un modelo neurológico del humano en el tercer trimestre de gestación (Spear & Molina, 2001). Sin embargo, cabe destacar que los estudios con animales tienen limitaciones por lo cual no pueden captar la totalidad de la conducta humana en general, pero estas investigaciones en ciencia básica pueden darnos al menos algunas pautas para seguir profundizado en el estudio de la misma.

Utilizando como base este tipo de investigaciones podrían desarrollarse a futuro nuevos tratamientos psicológicos que faciliten los comportamientos de apego en el caso de bebés que tienen que estar un tiempo prolongado lejos de sus madres, por ejemplo, en períodos largos de internación. Asimismo, esta investigación generaría un avance en el descubrimiento de los mecanismos que subyacen a los comportamientos de preferencia del consumo del alcohol, que puede ser un predictor de este comportamiento en humanos y fomentar más y

mejores intervenciones en la prevención y tratamiento de las patologías derivadas de su consumo excesivo.

Los datos obtenidos en este proceso resultan novedosos y de gran importancia dado que los estudios realizados hasta momento que abarcan aprendizajes con estímulos olfativos y gustativos en etapas tempranas del desarrollo, no consideran la acción conjunta de ambas modalidades sensoriales. Los resultados de este tipo de trabajos ayudaría a determinar qué mecanismos podrían estar implicados en el incremento del consumo de alcohol en ratas expuestas a esta droga en etapas tempranas de la ontogenia y permitirían formular nuevas hipótesis no consideradas en trabajos previos.

## Referencias:

- Abate, P., Spear, N. E., & Molina, J. (2002). Fetal and infantile alcohol-mediated associative learning in the rat. *Alcoholism Clinical Experimental Research*, 27, 989-998.
- Beauchamp, G. K., & Mennella, A. (2011). Flavor Perception in Human Infants: Development and Functional Significance. *Digestion*, 83, 1–6.
- Blass, E. M., & Teicher, M.H. (1980). Suckling. *Science*, 210, 15-22.
- Blass, E. M., & Fitzgerald, E. (1988). Milk-induced analgesia and comforting in 10-day-old rats: Opioid mediation. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 29, 9-13.
- Bowlby, J. (1951). The nature of the child's tie to his mother. *International Journal of Psychology*, 10, 1-23.
- Bowlby, J. (1958). The nature of the child's tie to his mother. *Psychiatry Neuroscience*, 29, 364-382.
- Bowlby, J. (1969). *Attachment and Loss: Volume 1: Attachment*. London: The Hogarth Press and the Institute of Psycho-Analysis.
- Bowlby, J. (1988). *A secure base: Parent-child attachment and healthy human development*. New York: Basic Books.
- Bruno, J. P., Teicher, M. H., & Blass, E. M. (1980). Sensory determinants of suckling behavior in weanling rats. *Journal of comparative. Physiological Psychology*, 94, 115-127.
- Cheslock, S. J., Varlinskaya, E. I., Silveri, M. M., Petrov, E. S., Spear, L.P., & Spear, N. E. (2000). Acute effects of ethanol and the first suckling episode in the newborn rat. *Alcoholism Clinical Experimental Research*, 7, 996-1002.
- Cheslock, S. J., Varlinskaya, E. I., Petrov, E. S., & Spear, N. E. (2000). Rapid and robust olfactory conditioning with milk before suckling experience:

- Promotion of nipple attachment in the newborn rat. *Behavioral Neuroscience*, 114, 484-495.
- Cheslock, S., Varlinskaya, E., Petrov, E. S., Silveri, M. M., Spear, L. P., & Spear, N. E. (2001). Ethanol as a reinforcer in the newborn? first suckling experience. *Alcoholism Clinical Experimental Research*, 25, 395-402.
- Cheslock, S. J., Varlinskaya, E. I., High, J. M., & Spear, N. E. (2003). Higher order conditioning in the newborn rat; Effects of temporal disparity imply infantile encoding of simultaneous events. *Infancy*, 4, 157-176.
- Cheslock, S. J., Sanders, S. K., & Spear, N. E. (2004). Learning during the newborn's first meal; special resistance to retroactive interference. *Developmental Science*, 7, 581-598.
- Chotro, M. G., Arias, C., & Laviola, G. (2007). Increased ethanol intake after prenatal ethanol exposure: studies with animals. *Neuroscience. Biobehavioral Reviews*, 31, 181-191.
- Faas, A. (2012). Alcohol y desarrollo temprano: ¿Clave sensorial o teratógeno conductual? *Anuario de Investigaciones de la Facultad de Psicología*. Extraído de <http://revistas.unc.edu.ar/index.php/aifp/article/view/2895> el 14 de enero del 2016.
- Faas, A. E., Spontón, E. D., Moya P. R., & Molina, J.C. (2000). Differential responsiveness to alcohol odor in human neonates: Effects of maternal consumption during gestation. *Alcohol*, 22, 7–17
- Fifer, W. P., & Moon, C. (1995). The effects of fetal experience with sound. En J. P. Lecanuet, N. A. Krasnegor, W. P. Fifer, & W. P. Smotherman (Eds.), *Fetal behavior: A psychobiological perspective* (pp. 351–366). Hillsdale, NJ: Erlbaum.
- Fillion, T. J., & Blass E. M. (1986). Infantile experience with suckling odors determines adult sexual behavior in male rats. *Science*, 14, 729-731.
- Harlow, H. F., & Suomi, S. J. (1970). Nature of love: Simplified. *American Psychologist*, 25, 161-168.

- Harlow, H. F., & Harlow M. K. (1996). Learning to love. *American Scientist*, *54*, 244-72.
- Hartshorn, K. (1998). Developmental changes in the specificity of memory over the first year of life. *Developmental Psychobiology*, *33*, 61–78.
- Hayashi., H., & Tadokoro, S. (1985). Learning retardation and enhanced ethanol preference produced by postnatal pretreatments with ethanol in adult rats. *The Japanese Journal of Pharmacology*, *37*, 269-76.
- Hepper, P. G. (1988). Adaptive fetal learning: prenatal exposure to garlic affects postnatal preferences. *Animal Behaviour*, *36*, 935-936.
- Hess, E. H. (1973). Imprinting: Early Experience and the Developmental Psychobiology of Attachment. Princenton: New Jersey. Van Nostrand Rehiold. *Psychosomatic Medicine*, *37*, 188-190.
- Hofer, M. A., & Sullivan R. M. (2001). Toward a Neurobiology of Attachment. *Handbook of attachment: Theory, research, and clinical applications*, *11*, 241-268.
- Insel, T. R., & Young, L. J. (2001). The neurobiology of the attachment. *Nature* *2*: 129-136
6. Branchi, I., Santucci, D. & Alleva, E. (2001). Ultrasonic vocalisation emitted by infant rodents: a tool for assessment of neurobehavioural development. *Behavioural Brain Research*, *125*, 49–56.
- Kamenetzky, G. V., & Mustaca, A. E. (2005). Modelos animales para el estudio del alcoholismo. *Terapia Psicológica*, *23*, 65-72.
- Kamenetzky, G. V., Ifran, M. C., & Suárez, A. B. (2014). Aprendizajes sensoriales tempranos y su relación con las conductas de apego. *Revista Argentina de Ciencias del Comportamiento*, *6*, 50-60.
- Kamenetzky, G., Suárez, A., Pautassi, R., Mustaca, A., & Nizhnikov, M. (2015). Effect of pre-exposure to odors on the first intake behavior. *Physiology and Behavior*, *148*, 51-57..

- Kehoe, P., & Blass, E. M. (1986). Behaviorally functional opioid systems in infant rats. Evidence for olfactory and gustatory classical conditioning. *Behavioral Neuroscience*, *100*, 359-367.
- Landers, M. S., & Sullivan, R. M. (2012). The Development and Neurobiology of Infant Attachment and Fear. *Developmental Neuroscience*, *34*, 101–114.
- Lecanuet, J. P., & Schaal, B. (1996) fetal sensory competences. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, *68*, 1–23.
- Levine, S. (2001). Primary social relationships influence the development of the hypothalamic pituitary adrenal axis in the rat. *Physiology & Behavior*, *73*, 255-260.
- Liem, D. G., & Mennella, J. A. (2002). Sweet and Sour Preferences During Childhood: Role of Early Experiences. *Developmental Psychobiology*, *41*, 388-395.
- López, N. A., Guzmán J. L., Gonzalez J. E., Collás A. O., Verdugo, J. C., Aguirre Z., & Torres J. (2008). Caracterización del apego materno en ratas wistar y sprague dawleye. *Gnosis*, *6*, 1-8.
- Lorenz, K. (1937). The Companion in the Bird's World. *The Auk*, *54*, 245-273.
- Ludington-Hoe, S. M., & Morgan, K. (2014). Infant Assessment and Reduction of Sudden Unexpected Postnatal Collapse Risk During Skin-to-Skin Contact. *Newborn & Infant Nursing Reviews*, *14*, 28–33.
- March, E., Pautassi, R. M., Nizhnikov M., Fernández J., Spear E. M., & Molina J. C (2012). Olfactory preference for ethanol following social interaction with an intoxicated peer in adolescent rats exposed to ethanol in-utero. *Psicothema*, *25*, 355-362.
- March, S. M., Abate P., Spear N. E., & Molina J. C. (2013). The role of acetaldehyde in ethanol reinforcement assessed by Pavlovian conditioning in newborn rats. *Psychopharmacology*, *226*, 491 – 499.

- Marlier, L., Schaal, B., & Soussignan, R. (1998). Neonatal Responsiveness to the Odor of Amniotic and Lacteal Fluids: A Test of Perinatal Chemosensory Continuity. *Child Development*, *69*, 611-623.
- Díaz-Marte, C., Gutierrez-Garcia A. G., Mendoza-Lopez M. R., & Contreras C. M. (2010) Newborns Display Orientating Movements Towards its own Amniotic Fluid and Some Fatty Acids. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana*, *10*, 6-10.
- McLean, J. H., & Shipley, M. T. (1991). Postnatal development of the noradrenergic projection from locus coeruleus to the olfactory bulb in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, *304*, 467–477.
- Mennella, J. A., & Beauchamp, G. K. (1991). Maternal Diet Alters Alters the Sensory Qualities of Human Milk and the Nursling's Behavior. *Pediatrics*, *88*, 737-744.
- Mennella, J. A., & Beauchamp, G. K. (1991a). The Transfer of Alcohol to Human Milk: Effects on Flavor and the Infant's Behavior. *The New England Journal of Medicine*, *325*, 981-985.
- Mennella, J. A., & Beauchamp, G. K. (1993). The Effects of Repeated Exposure to Garlic-Flavored Milk on the Nursling's Behavior. *Pediatric Research*, *34*, 805-808.
- Mennella, J. A., & Beauchamp, G. K. (1996). Developmental Changes in the Acceptance of Protein Hydrolysate Formula. *Developmental and Behavioral Pediatrics*, *17*, 386-391.
- Mennella, J. A., Jagnow, C. P., & Beauchamp, G. K. (2001). Prenatal and Postnatal Flavor Learning by Human Infants. *Pediatrics*, *107*, 88-94.
- Mennella, J. A., Johnson, A., & Beauchamp, G. K. (1995). Garlic Ingestion by Pregnant Women Alters the Odor of Amniotic Fluid. *Chemical Senses*, *20*, 207-209.
- Mennella, J.A. (1999). The transfer of alcohol to human milk: Sensory implications and effects on mother-infant interaction En: N.E. Spear, L.P.

- Spear, J.H. Hannigan y C. Goodlett (Eds.). Alcohol and Alcoholism: Brain and Development. *Lawrence Erlbaum Associates*, 177-198.
- Mennella, J.A., & Beauchamp, G.K. (2002). Flavor experiences during formula feeding are related to preferences during childhood. *Early Human Development*, 68, 71-82.
- Miller, S. S., & Spear, N. E. (2009). Olfactory Learning in the Rat Immediately After Birth: Unique Salience of First Odors. *Developmental Psychobiology*, 51, 488-504.
- Miller, S. S., & Spear, N. E. (2010). Mere Odor Exposure Learning in the Rat Neonate Immediately After Birth and 1 Day Later. *Developmental Psychobiology*, 52, 343-351.
- Molina, J. C., & Chotro, G. (1991). Association between Chemosensory Stimuli and Cesarean Delivery in Rat Fetuses: Neonatal Presentation of Similar Stimuli Increases Motor Activity. *Behavioral and Neural Biology*, 55, 42-60.
- Molina, J. C., & Spear, N. E. (2001). Consequences of early exposure to alcohol: How animal studies reveal later patterns of use and abuse in humans. En Carroll, Marilyn E. (Ed); Overmier, J. Bruce (Ed), (2001). *Animal research and human health: Advancing human welfare through behavioral science* (pp. 85-99). Washington, DC, US: American Psychological Association, xviii, 385 pp.
- Molina, J. C., Domínguez, H. D., López, M. F., Pepino, Y., & Faas, A. E. (1999). The role of fetal and infantile experience with alcohol in later recognition and acceptance patterns of the drug. *Drug and Alcohol Dependence*, 36, 89-99.
- Moneta M. E. (2003). *El Apego: aspectos clínicos y psicobiológicos de la díada madre-hijo*. Cuatro Vientos Eds. Santiago de Chile (2008, tercera Ed.).
- Moriceau, S. & Sullivan, R. M. (2005). Neurobiology of Infant Attachment. *Developmental Psychobiology*, 47, 230-242.



- Moriceau, S., Shionoya, K., Jakubs, K., & Sullivan R. (2009). Early-Life Stress Disrupts Attachment Learning: The Role of Amygdala Corticosterone, Locus Ceruleus Corticotropin Releasing Hormone, and Olfactory Bulb Norepinephrine. *The Journal of Neuroscience*, 29, 5745–5755.
- Moriceau, S., Wilson, D. A., Levine, S., & Sullivan, R. M. (2006). Dual Circuitry for Odor–Shock Conditioning during Infancy: Corticosterone Switches between Fear and Attraction via Amygdala. *The Journal of Neuroscience*, 26, 6737–6748.
- Nizhnikov, M. E., Molina, J. C., & Spear, N. E. (2000). Central reinforcing effects of ethanol are blocked by catalase inhibition. *Alcohol*, 41, 525–534.
- Nizhnikov, M. E., Molina, J. C., Varlinskaya, E. I., & Spear, N. E. (2006) Prenatal ethanol exposure increases ethanol reinforcement in neonatal rats. *Alcoholism Clinical Experimental Research*, 30, 34-45.
- Nizhnikov, M. E., Petrov, E. S., Varlinskaya, E. I., & Spear N. E. (2002). Newborn Rats' First Suckling Experience: Taste Differentiation and Suckling Plasticity. *Physiology & Behavior*, 76, 181– 198.
- Oster, H., & Rosenstein, D. (1998). Baby-FACS: Analyzing facial movements in infants. *Unpublished manuscript*.
- Pautassi, R. M, Acevedo, M. B., & Fabio, M. C. (2012). Evaluación de propiedades motivacionales del alcohol en infancia y adolescencia. *Anuario de Investigaciones de la Facultad de Psicología de la Universidad de Córdoba*, 1, 40- 56.
- Pautassi, R. M., Melloni, C., Ponce, L. F., & Molina, J. C. (2005). Acute ethanol counteracts the acquisition of aversive olfactory learning in infant rats. *Alcohol*, 36, 99-10.
- Pepino, M. Y., Abate, P., Spear, N. E., & Molina, J. C. (2004). Hightened etanol intake in infant and adolescent rats after nursing experiences with an etanol-intoxicated dam. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 28, 895-905.

- Petrov, E. S., Varlinskaya, E. I., & Smotherman, W. P. (1997). The Newborn Rat Ingests Fluids through a Surrogate Nipple: A New Technique for the Study of Early Suckling Behavior. *Physiology & Behavior*, 62, 1155–1158.
- Petrov, E. S., Varlinskaya, E. I., & Spear, N. E. (2001). Self-administration of ethanol and saccharin in newborn rats: effects on suckling plasticity. *Behavioral Neuroscience*, 115, 1318-1331.
- Petrov, E. S., Varlinskaya, E. I., Bregman, K., & Smotherman, W. P. (1999). Sustained attachment to the nipple in the newborn rat depends on experience with the nipple, milk, and the expression of oral grasping. *Behavioral Neuroscience*, 113, 211-221.
- Petrov, E. S., Varlinskaya, E. I., & Spear, N. E. (2003). The surrogate nipple technique in the rat provides a useful animal model of suckling in bottle-feeding circumstances: reply to Blass (2002). *Physiology & Behavior*, 78, 813– 817.
- Porter, R. H., & Winberg, J. (1999). Unique salience of maternal breast odors for newborn infants. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 23, 439-449.
- Pueta, M., Abate, P., Spear, N. E., & Molina, J. C. (2003). Interaction between pre- and early postnatal alcohol related-memories: Impact upon alcohol acceptance patterns. Poster presentado en la Reunión Científica Anual de la *Research Society on Alcoholism*, Fort Lauderdale, 21 al 25 de Junio de 2003.
- Sanders, S., & Spear, N. E. (2007). Ethanol acceptance is high during early infancy and becomes still higher after previous ethanol ingestion. *Alcoholism Clinical Experimental Research*, 31, 1148–1158.
- Schaal, B., Montagner, H., Hertling, E., Bolzoni, D., Moyse, A., & Quichon, R. (1980) Les stimulations olfactives dans les relation entre l'enfant et la mere. *Reproduction Nutrition Development*, 20, 843-858.

- Schaal, B., Marlier, L., & Soussignan, R. (1998). Olfactory Function in the Human Fetus: Evidence From Selective Responsiveness to the Odor of Amniotic Fluid. *Behavioral Neuroscience*, 112, 1438-1449.
- Schaal, B., Marlier, L., & Soussignan, R. (2000). Human Foetuses Learn Odours from their Pregnant Mother's Diet. *Chemical Senses*, 25, 729-737.
- Schaal, B., Orgeur, P., & Rognon, C. (1995). Odor sensing in the human fetus: Anatomical, functional, and chemo-ecological bases. *Prenatal Development: A psychobiological Perspective*, 25, 729-737.
- Smotherman, W. P. (1982). Odor aversion learning by the rat fetus. *Physiology Behavior*, 29, 769-71.
- Smotherman, W. P., Goffman, D., Petrov, E. S., & Varlinskaya, E. I. (1997). Oral grasping of a surrogate nipple by the newborn rat. *Developmental Psychobiology*, 31, 3-17.
- Spear, N. E., & Molina, J. C. (2001). Consequences of early exposure to alcohol: how animal studies reveal later patterns of use and abuse in humans. *Animal research and human health*, 85-99.
- Spitz, R. A. (1945). Hospitalism: An inquiry into the genesis of psychiatric conditions in early childhood. *The Psychoanalytic Study of the Child*, 1, 53-74.
- Stickrod, G., Kimble, D. P., & Smotherman, W. P. (1982). In utero taste/odor aversion conditioning in the rat. *Physiology Behavior*, 1, 5-7.
- Sullivan R. M., & Holman, P. J. (2010). Transitions in sensitive period attachment learning in infancy: The role of corticosterone. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 34, 835-844.
- Sullivan, R. M., Landers, M., Yeaman, B., & Wilson, D. A. (2000). Good memory of bad events in infancy. *Nature*, 407, 38-39.

- Sullivan, R.M. (2003). Developing a Sense of Safety: The Neurobiology of Neonatal attachment. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1008, 122–131.
- Teicher, M. H., & Blass, E. M. (1977). First suckling response of the newborn albino rat: The roles of olfaction and amniotic fluid. *Science*, 198, 635—637.
- Teicher, M. H., & Blass, E. M. (1976). Suckling in newborn rats: Eliminated by nipple lavage, reinstated by pup saliva. *Science*, 193, 422-425.
- Teicher, M. H., & Blass, E. M. (1977). First suckling response of the newborn albino rat: the roles of olfaction and amniotic fluid. *Science*, 198, 635-636.
- Terry, M., & Johanson, I. (1996). Effects of altered olfactory experiences on the development of infant rats' responses to odors. *Developmental Psychobiology*, 29, 66-69.
- Upton, K. J., & Sullivan, R. M. (2010). Defining Age Limits of the Sensitive Period for Attachment. *Developmental Psychobiology*, 52, 453-464.
- Varendi H., Porter R. H., & Winberg J. (1996). Attractiveness of amniotic fluid odor: evidence of prenatal olfactory learning? *Acta Paediatrica*, 85, 1223–1227.
- Varendi, H., Porter, R. H., & Wimberg, J. (1994). Does the newborn baby find the nipple by smell. *The Lancet*, 344, 989-990.
- Varlinskaya, E. I., Petrov, E. S., Cheslock, S. J., & Spear, N. E. (1999). A new model of ethanol selfadministration in newborn rats: gender effects on ethanol ingestion through a surrogate nipple. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, 23, 1368-1376.
- Walker, C. D., Deschamps, S., Proulx, K., Tu, M., Salzman, C., Woodside, B., Lupien, S., Gallo-Payet, N., & Richard, D. (2004). Mother to infant or infant to mother? Reciprocal regulation of responsiveness to stress in rodents and the implications for humans. *Psychiatry Neuroscience*, 29, 364-382.

Youngentob, L. M, Sheehe, P. R, Eade, A. M., Molina, J. C., Spear, E. M., & Youngentob, S. L. (2008). The consequence of fetal ethanol exposure and adolescent odor re-exposure on the response to ethanol odor in adolescent and adult rats. *Behavioral and Brain Functions*, 10, 9044-9081.