UPPSALA
UNIVERSITET

Prenatal alkoholexponering påverkar minne och inlärning

Moa Axelsson

Independent Project in Biology
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, höstterminen 2014
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Sammandrag

Alkoholkonsumtion under graviditet är relativt vanligt i flera delar av världen, på vissa platser konsumerar över hälften av alla gravida kvinnor alkohol. Detta sker trots att det är väldokumenterat att prenatal alkoholexponering (PAE) kan leda till långvariga fysiologiska och neurologiska skador, däribland minnes- och inlärningssvårigheter. Långvarig potentiering (LTP) är en allmänt accepterad modell för minnesinlagring och ger upphov till en förstärkt synaptisk signalöverföring. LTP har bland annat studerats i dentate gyrus (DG) i hippocampus, en hjärnstruktur som är starkt kopplad till minne och inlärning. Denna översiktsartikel syftar till att utreda hur PAE-orsakade defekter i NMDAR (N-metyl-D-aspartat-receptor)-beroende LTP i DG är relaterat till minnes- och inlärningssvårigheter. Metoderna som främst använts för att studera denna relation är elektrofysiologi och immunoblotting. Möss har varit det huvudsakliga försöksdjuret. Resultaten visar att det finns flera cellulära orsaker till att LTP:n förändras och ger upphov till minnes- och inlärningssvårigheter efter PAE. Förändringar i NMDAR-subenhetssammansättning, lägre NMDAR-densitet och minskat kalciuminträde i den postsynaptiska nervcellen är några möjliga förklaringar. Det verkar också finnas skillnader mellan könen när det gäller vissa mekanismer, t.ex. verkar mängden glutaminsyntas, ett enzym som är essentiellt för återfyllning av neurotransmittorn glutamat, vara uppreglerad hos honor efter PAE och detta förefaller skydda dem från reducering av LTP. Resultaten visar dock att det är svårt att se ett tydligt samband mellan graden av LTP-förändring och mängden alkohol som konsumeras eller under vilken graviditetsperiod som konsumtionen sker. Förändring i uttryck eller sammansättning av NMDAR-subenheter har visats påverka viktiga intracellulära signalkaskader essentiella för LTP, och kan också vara orsak till den observerade reduktionen av kalciuminsläpp. Lägre NMDAR-densitet kan sammankopplas med störningar i cellers differentiering och migration efter PAE. De observerade könsskillnaderna kan bero på att de två könen har olika känslighet för eller produktion av ämnen som är involverade i att inducera eller inhibera LTP. Slutsatsen är att PAE-orsakade defekter i NMDAR-beroende LTP i DG i hippocampus kan vara relaterat till minnes-och inlärningssvårigheter via olika mekanismer, och troligen en kombination av flertalet, där alternerade NMDAR-subenheter, minskat kalciuminsläpp i den postsynaptiska cellen och lägre NMDAR-densitet verkar vara viktiga bidrag till de observerade svårigheterna.

Inledning

Gravida kvinnors alkoholkonsumtion

I stora delar av världen är det vanligt att kvinnor konsumerar alkohol även när de är gravida, exempelvis dricker 10 - 20 % av kvinnorna i USA alkohol när de är gravida och motsvarande siffror för Uruguay och vissa delar av Italien är 40 % respektive 50 % (Valenzuela *et al.* 2012). I specifika områden i Sydafrika är andelen alkoholkonsumerande gravida kvinnor hela 64 % och av dessa dricker 75 % minst tre drinkar vid varje konsumtionstillfälle (Eaton *et al.* 2014). En studie från Australien visade att ca 37 % av mammorna dricker alkohol under graviditeten och att drygt 95 % av dessa dricker en drink per tillfälle (Hutchinson *et al.* 2013). Andelen alkoholkonsumerande gravida kvinnor i Stockholmsområdet år 2003 var 26 % (Goransson *et al.* 2006).

Fosterskador orsakade av alkohol samt skadefrekvens

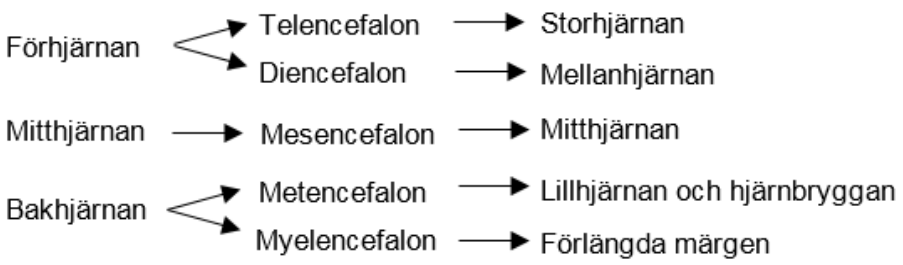
Det är väldokumenterat att prenatal alkoholexponering (PAE), dvs. att exponeras för alkohol innan födseln, kan leda till bestående fysiologiska och neurologiska skador (Valenzuela *et al.* 2012). Forskning indikerar att inte enbart höga alkoholdoser kan ge långvariga neurologiska

nedsättningar, utan även måttliga (Valenzuela *et al.* 2012) och låga (Sulik *et al.* 1981) doser. Samlingsbegreppet för skador orsakade av moderns alkoholkonsumtion under graviditeten är fetala alkoholspektrumstörningar (FASD) (Streissguth & O'Malley 2000), där fetalt alkoholsyndrom (FAS) är den mest allvarliga varianten (Valenzuela *et al.* 2012). Några av symptomen vid FAS är pre- och postnatal tillväxthämning, ansiktsmissbildningar såsom korta ögonspringor, platt näsfåra och tunn överläpp samt abnormaliteter i centrala nervsystemet som kan leda till bl.a. sen mental utveckling (Burd & Martsolf 1989), koordinationsproblem och minnes- och inlärningssvårigheter (Valenzuela *et al.* 2012). Individer med FASD kan ha en delmängd av ovannämnda avvikelser, t.ex. koncentrations-, minnes- eller inlärningssvårigheter (Manji *et al.* 2009).

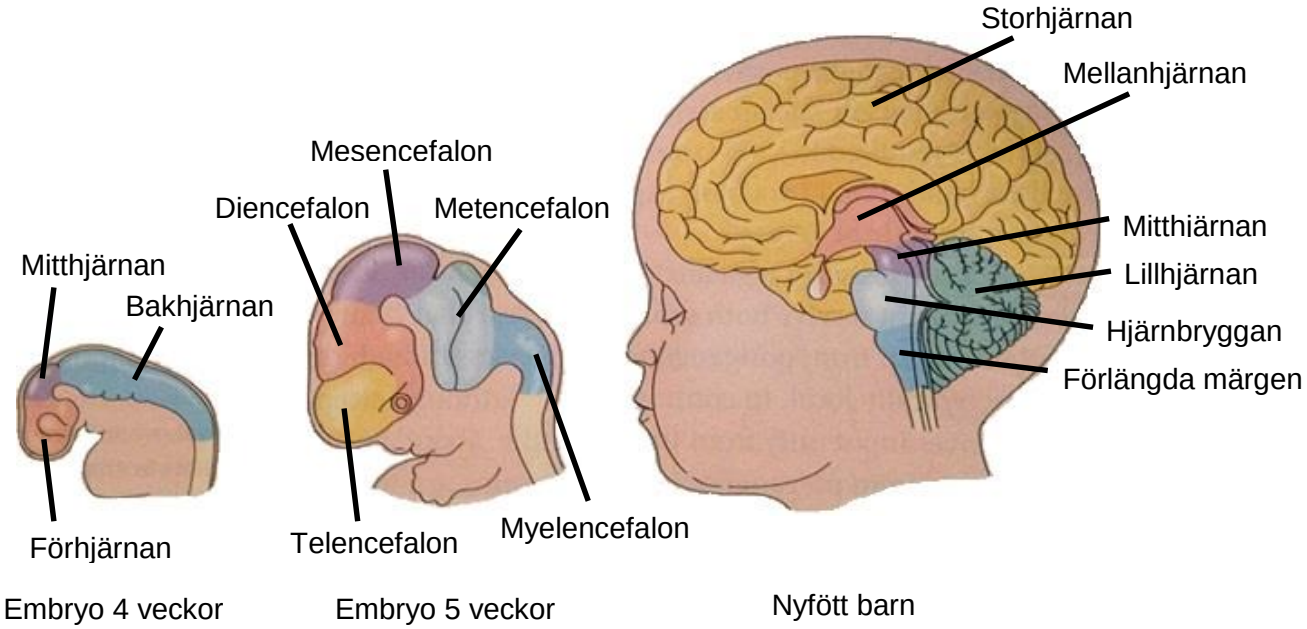
Frekvensen av FAS och FASD varierar i olika delar av världen. I vissa samhällen i Sydafrika är frekvensen av FAS och FASD bland barn i första klass 5,93 - 9,10 % respektive 13,51 - 20,75 % (May *et al.* 2013). Detta är höga siffror jämfört med andra länder, t.ex. Australien och USA där motsvarande siffror för FAS är 0,001 - 0,068 % (Burns *et al.* 2013) respektive 0,2 - 0,7 % (May *et al.* 2009), men det är också ett rimligt utfall då andelen alkoholkonsumerande gravida kvinnor i Sydafrika är högre än i USA och Australien. Frekvensen av FASD är inte fastställd i Australien (Burns *et al.* 2013) men i USA beräknas frekvensen av FASD bland yngre skolbarn vara 2 - 5 % (May *et al.* 2009).

Embryonal utveckling av hjärnan

Studier pekar på att orsakerna till FASD bland annat kan vara skador i flera cellulära mekanismer i olika delar av hjärnan (Valenzuela *et al.* 2012). Sadler (2010) menar att hjärnan, och resterande organ, är som mest känslig för toxisk exponering under tiden den genomgår störst utveckling. Människans hjärna börjar utvecklas från ektodermet under tredje graviditetsveckan (Delhaye-Bouchaud 2001). Ektodermet är ett av de tre groddbladen, från vilka celler differentierar och specialiseras för att bilda alla vävnader som utgör människans olika organ. En förtjockning av ektodermet bildar den så kallade neuralplattan, vars kanter så småningom upphöjs och sammansmälter till neuralröret (Sadler 2010). Från neuralrörets främre (kraniala) del bildas tre utbuktningar; förhjärnan, mitthjärnan och bakhjärnan, som tillsammans under utvecklingens gång ger upphov till hjärnans samtliga strukturer (se Fig. 1 och Fig. 2) (Reece *et al.* 2011).

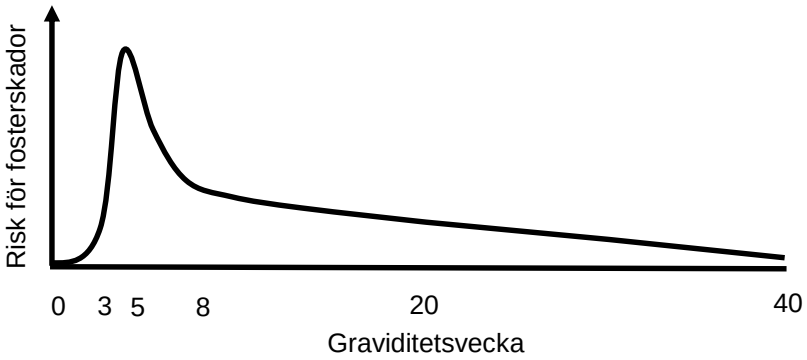


Figur 1. Hjärnans utveckling. Omritad från Reece et al. (2011).



Figur 2. Utveckling och specificering av hjärnans strukturer. Omritad från Reece et al. (2011).

Det är störst risk att hjärnan skadas av olika yttre influenser under den så kallade embryonala perioden (Symonds *et al.* 2007), vilken sträcker sig från vecka tre till vecka åtta (se Fig. 3). Dock fortsätter hjärnan att differentiera under fosterperioden (vecka 9 och framåt) och det finns en risk att den tar skada av eventuell toxisk exponering även då (Sadler 2010). De mest allvarliga fosterskadorna kan således ske under den period då många kvinnor fortfarande är omedvetna om att de är gravida.



Figur 3. Samband mellan tidpunkt under graviditet och risk för fosterskador. Omritad efter Sadler (2010).

Några hjärnstrukturers övergripande funktioner

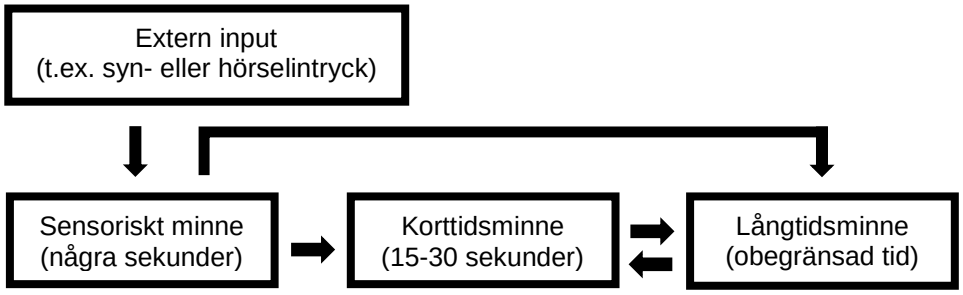
De hjärnstrukturer som ses hos det nyfödda barnet i Fig. 2 är samma generella strukturer som återfinns hos en vuxen individ (Reece *et al.* 2011). Här följer en kort översikt av funktioner hos de hjärnstrukturer som är specificerade i Fig. 2.

Storhjärnan, vilken utgör nära 90 % av hjärnans totala vikt, är involverad i många funktioner, bl.a. kontroll av skelettmuskulatur, känslor, inlärning, minne och förmåga att planera (Reece *et al.* 2011). Även vår förmåga att tala och förstå språk samt tolkning av sinnesintryck är knutet till storhjärnan (Sand *et al.* 2007). Mellanhjärnan är i sin tur involverad i bl.a. sortering av information som ska till storhjärnan samt reglering av kroppstemperatur, vår biologiska klocka, hunger, törst och sexuellt beteende (Reece *et al.* 2011). För att kunna koordinera våra rörelser och hålla balansen samt lära oss och komma ihåg motoriska färdigheter behöver vi

lillhjärnan (Reece *et al.* 2011). De tre återstående strukturerna från Fig. 2 är mitthjärnan, hjärnbryggan och förlängda märgen, vilka tillsammans utgör hjärnstammen (Purves *et al.* 2008). Hjärnstammen förbinder ryggmärgen med hjärnan och här kontrolleras flertalet essentiella funktioner såsom hjärtats minutvolym, blodtryck, fördelning av blod till olika kroppsdelar, andning samt vissa matspjälkningsfunktioner (Sand *et al.* 2007).

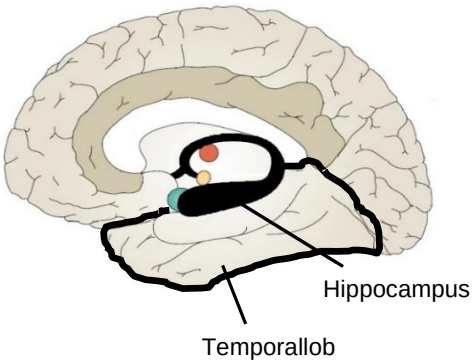
Hippocampus och kategorisering av minne

Som nämnts ovan är storhjärnan involverad i inlärning och minne, och en särskilt intressant struktur i denna del av hjärnan är hippocampus, som visat sig vara starkt kopplad till vår förmåga att lära oss nya saker och bilda minnen (Purves *et al.* 2008). En övergripande kategorisering av minne är gjord utifrån hur lång tid ett minne är verksamt (Purves *et al.* 2008). Långtidsminnet är en utav dessa kategorier, i vilket ett minne kan sparas under i princip obegränsad tid. De övriga två kategorierna kallas för sensoriskt minne respektive korttidsminne (se Fig. 4) (Atkinson & Shiffrin 1968). Ett minne befinner sig i det sensoriska minnet i några få sekunder och något längre, ca 15-30 sekunder, i korttidsminnet (Atkinson & Shiffrin 1968). Ett av de vanligaste sätten att lagra det vi upplever och vill lära oss i långtidsminnet är genom repetition (Whitlock & Moser 2009), t.ex. måste barn rent praktiskt öva på att cykla för att lära sig det och studenter måste plugga inför tentamen för att lära sig kursinnehållet.

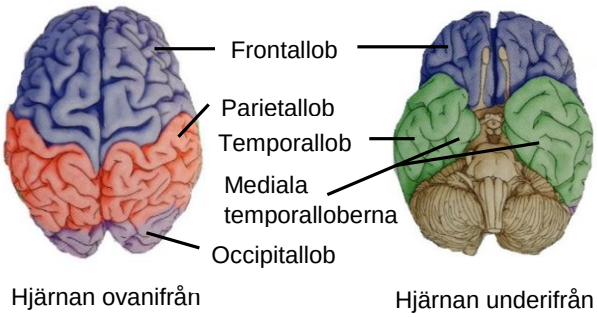


Figur 4. Temporal kategorisering av minne. Omritad efter Atkinson & Shiffrin (1968) och Purves (2008).

Hippocampus, som alltså är viktig i denna kontext, är belägen djupt i mediala delarna av temporalloberna (se Fig. 5 och Fig. 6) (Bird & Burgess 2008), dvs. i de delar av temporalloberna som ligger närmast hjärnans mittlinje, och har likt många andra strukturer i människan en vänster- och en högerdel (Purves *et al.* 2008). De mediala temporalloberna är ett system av anatomiskt relaterade strukturer som är viktiga för så kallat explicit minne (Squire *et al.* 2004).



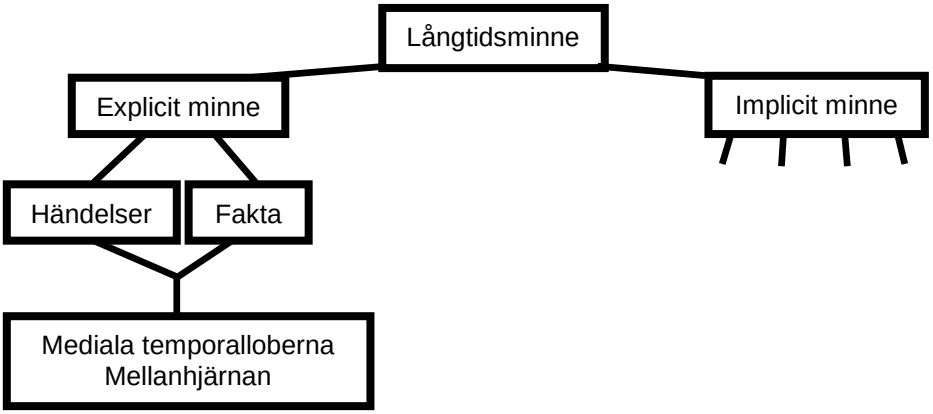
Figur 5. Bilden visar var i hjärnan hippocampus är belägen. Omritad efter Bird & Burgess (2008).



Figur 6. Hjärnans lober, samtliga är delar av storhjärnan. Omritad efter Purves et al. (2008).

Det explicita minnet är en av två större indelningar av långtidsminnet, där den andra kategorin benämns implicit minne (se Fig. 7) (Whitlock & Moser 2009). Detta är en indelning som berättar *vilken* information som lagras samt *var* i hjärnan den lagras (Purves *et al.* 2008). Det explicita minnet är kopplat till medveten hågkomst och igenkänning av information och händelser medan det implicita minnet är kopplat till omedveten utmatning av tidigare upplevelser och färdigheter (Schacter 1997). Ett exempel för att tydliggöra skillnaden mellan de två minnestyperna kan utgöras av att sjunga, där det implicita minnet vet hur du rent muskulärt ska göra och det explicita minnet berättar vad du ska sjunga, t.ex. genom att du kommer ihåg texten.

Olika delar av hjärnan är viktiga för behandling och inlagring av olika minnestyper, t.ex. verkar mediala temporalloberna och mellanhjärnan vara viktiga för explicit minne medan bl.a. striatum, amygdala och lillhjärnan förefaller viktiga för vissa implicita minnen (Whitlock & Moser 2009). I min översiktsartikel vill jag behandla explicit minne och kommer härifrån fokusera på de strukturer, i synnerhet en specifik region, dentate gyrus (DG) i hippocampus, och mekanismer som är förknippade med denna minnestyp.



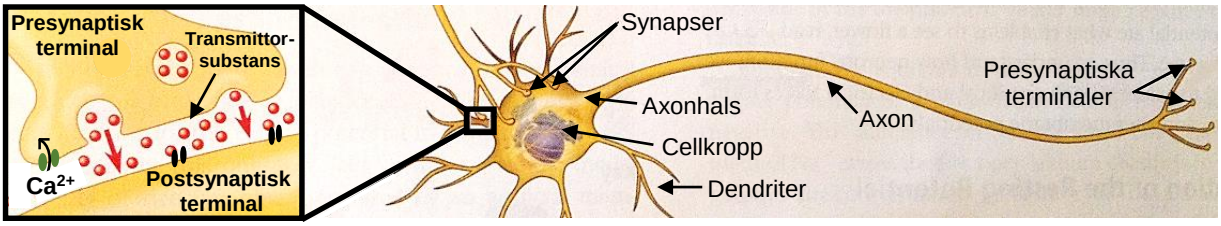
Figur 7. Översikt av långtidsminnets explicita minne - vilka informationstyper som ingår och var de lagras. Omritad efter Whitlock & Moser (2009).

Synaptisk plasticitet som fysiologisk förklaring av minnesinlagring

En företeelse som är starkt förenad med inlärning och minne är så kallad synaptisk plasticitet (Purves *et al.* 2008), vilket rent fysiologiskt är förändringar i synaptisk styrka, dvs. förändringar i hur intensivt och varaktigt nervceller kommunicerar (Zucker & Regehr 2002). Synaptiska kopplingar är inte statiska, som kopplingar och kretsar i datorer eller annan elektronisk utrustning, utan de är dynamiska och omformas ständigt som svar på det vi gör och upplever (Whitlock & Moser 2009). För att bättre förstå hur synaptisk plasticitet fungerar krävs grundläggande kunskaper om vad synapser är och hur överföring av information vid dessa sker.

Purves *et al.* (2008) definierar synapser som kopplingar mellan nervceller och deras målceller (t.ex. en annan nervcell, muskelcell eller endokrin cell) där överföring av information sker genom utsöndring och bindning av kemiska substanser. Här följer nu en översiktlig beskrivning av hur informationsöverföring mellan nervceller sker (se Fig. 8), vilken baseras på Purves *et al.* (2008) och Reece *et al.* (2011). För att en presynaptisk nervcell ska kunna kommunicera med en postsynaptisk nervcell behöver den presynaptiska cellens membranpotential vid axonhalsen överstiga tröskelvärdet på -55mV (vilopotentialen är -70mV). Om så sker kommer spänningskänsliga natriumjonkanaler öppna och natriumjoner

strömma in i den presynaptiska cellen. Det leder till att en aktionspotential börjar röra sig längs axonen till de presynaptiska terminalerna. Väl där kommer spänningskänsliga kalciumjonkanaler i den presynaptiska cellens cellmembran öppna och kalciumjoner strömma in i den presynaptiska terminalen, varvid vesiklar med transmittorsubstans exocyteras och transmittorsubstansen kommer ut i den synaptiska klyftan mellan de två cellerna. Transmittorsubstans binder då till receptorer i den postsynaptiska cellens cellmembran och signalen förs vidare via intracellulära mekanismer.



Figur 8. Schematisk bild av en nervcell och synaps. Omritad från Reece et al. (2011).

Det finns olika former av synaptisk plasticitet, där en del ger kortvarig förstärkning eller försvagning av en signal och andra ger långvarig förstärkning eller försvagning av en signal (Zucker & Regehr 2002). Purves *et al.* (2008) menar att orsakerna till synaptisk förstärkning bl.a. kan vara ökad utsöndring av transmittorsubstans pga. att starka stimuli leder till stor inströmning av kalcium i den presynaptiska terminalen och därmed ökad exocytos, att det transporteras fler receptorer till det postsynaptiska cellmembranet samt att det sker förändringar i genuttryck som leder till att fler synapser bildas. Synaptisk försvagning kan i sin tur bl.a. bero på att de postsynaptiska receptorerna desensibiliseras eller att utsöndring av transmittorsubstans minskar pga. att lagret av vesiklar med transmittorsubstans tömts (Zucker & Regehr 2002).

Synaptisk plasticitet är inget nytt begrepp utan beskrevs av Donald Hebb redan på 1940-talet, han skrev såhär:”When an axon of cell A is near enough to excite a cell B and repeatedly or persistently takes part in firing it, some growth process or metabolic change takes place in one or both cells such that A’s efficiency, as one of the cells firing B, is increased” (Hebb 1949). Hebb insåg alltså att det finns mekanismer som gör att två närliggande nervceller kan stabilisera sin kontakt med varandra när den presynaptiska cellen aktiverar den postsynaptiska cellen tillräckligt starkt. Den typ av plasticitet som Hebb beskrev faller in under kategorin långvarig synaptisk plasticitet, och det är inom denna kategori vi finner de mest vedertagna modellerna för inlärning och minnesinlagring (Whitlock & Moser 2009). Dessa mekanismer kallas för långvarig potentiering (eng. long-term potentiation) (LTP) respektive långvarig försvagning (eng. long-term depression) (LTD) (Whitlock & Moser 2009), där LTP ger en långvarigt förstärkt synaptiskt signalöverföring (Martin *et al.* 2000) och LTD ger en långvarigt försvagad synaptiskt signalöverföring (Bear & Abraham 1996). Det finns olika typer av LTP och LTD (Purves et al. 2008) men den variant som står i fokus i denna översiktsartikel är NMDAR (N-metyl-D-aspartat-receptor)-beroende LTP.

Efter en utförlig bakgrund till det valda ämnet avslutas nu inledningen med en frågeställning som denna översiktsartikel syftar till att besvara: *Hur är PAE-orsakade defekter i NMDAR-beroende LTP i DG i hippocampus relaterat till minnes- och inlärningssvårigheter?*

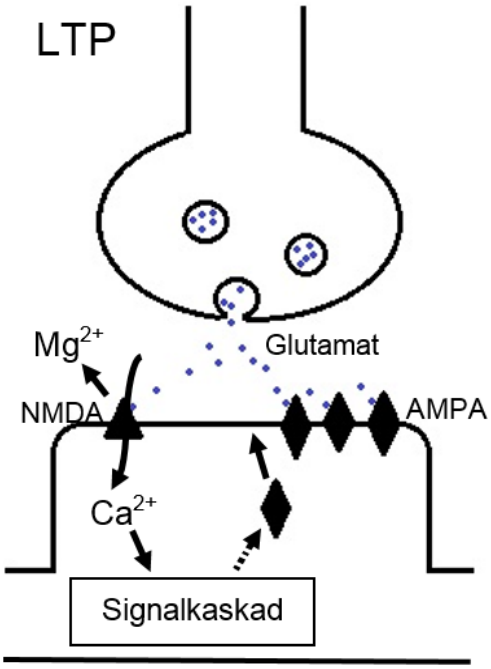
Mekanismerna bakom NMDAR-beroende LTP och LTD

NMDARs uppbyggnad

Det finns totalt sju identifierade NMDAR-subenheter, som på olika vis kan sammansättas till en receptor (Horak & Wenthold 2009). Subenheterna benämns GluN1, GluN2 (A-D) och GluN3 (A-B). De har skilda funktioner och mängden av varje subenhet varierar mellan hjärnans olika delar. Dessutom kan mängden av respektive subenhet i de olika delarna av hjärnan variera under livets gång. GluN1-subenheten är glycinbindande medan GluN2-subenheterna är glutamatbindande. Glycin är en co-agonist till NMDA-receptorn och krävs således för att receptorn ska fungera (Kohr 2006). Co-agonister kan t.ex. vara ett protein eller en jon som tillsammans med andra co-agonister binder till receptorer för att åstadkomma den avsedda biologiska responsen (Wood 1995). GluN3-subenheterna verkar ha en inhiberande effekt på receptoraktiviteten (Flores-Soto *et al.* 2012). NMDARs har flera modellerings- och regulatorsiter, där den glycinbindande siten är en av dem. Andra siter binder bland annat fencyklidin-liknande ämnen (Kemp *et al.* 1987) och Mg^{2+} (Mayer & Westbrook 1987). Den mest fundamentala NMDA-receptorn består av två GluN1-subenheter och två GluN2-subenheter (Kohr 2006). Det finns åtta olika splicevarianter av GluN1-subenheten (Horak & Wenthold 2009) och beroende på vilka varianter av GluN1- och GluN2-subenheter som ingår i receptorn får den olika biofysikaliska och farmakologiska egenskaper i avseende på bl.a. pH-känslighet, hur länge receptorn är aktiv och interaktion med intracellulära signalmolekyler. GluN2A- och GluN2B-subenheterna verkar vara essentiella för inducering av LTP (Kohr 2006).

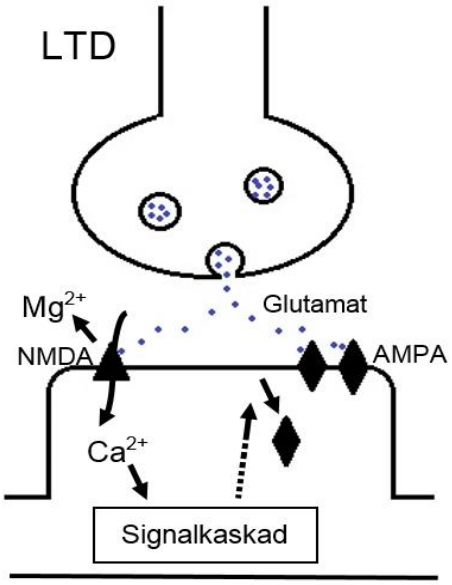
LTP

För att LTP ska initieras krävs det två samtidiga specifika händelser (Kauer & Malenka 2007). Den ena är att transmittorsubstansen glutamat frisläpps från en presynaptisk cell in i synaptiska klyftan där den binder till glutamatreceptorerna AMPAR (α-amino-3-hydroxi-5-metylisoxazol-4-propansyra-receptorn) och NMDAR i den postsynaptiska nervcellens cellmembran (Whitlock & Moser 2009). Den andra nödvändiga händelsen är att den postsynaptiska cellen måste vara tillräckligt depolariserad, varvid den magnesiumjon som vanligtvis blockerar NMDARs kanal lossnar (Linden 1994). När dessa två händelser sker samtidigt kommer kalciumjoner strömma in i den postsynaptiska cellen genom NMDARs (Linden 1994) och ökningen av kalciumjoner aktiverar komplexa signalkaskader i den postsynaptiska nervcellen (Kauer & Malenka 2007). Dessa signalkaskader involverar bland annat proteinkinaser som är essentiella för initiering av LTP och leder bland annat till att antalet AMPARs i den postsynaptiska cellens cellmembran ökar (se Fig. 9) (Kauer & Malenka 2007). Studier har också visat att det efter LTP-initieringen bland annat frigörs mer glutamat från den presynaptiska cellen (Whitlock & Moser 2009) och att antalet synapser ökar. Dessa strukturella förändringar kan vara essentiella för informationsinlagring (Kauer & Malenka 2007).



Figur 9. Översikt av initiering av LTP. Omritad från Whitlock & Moser (2009).

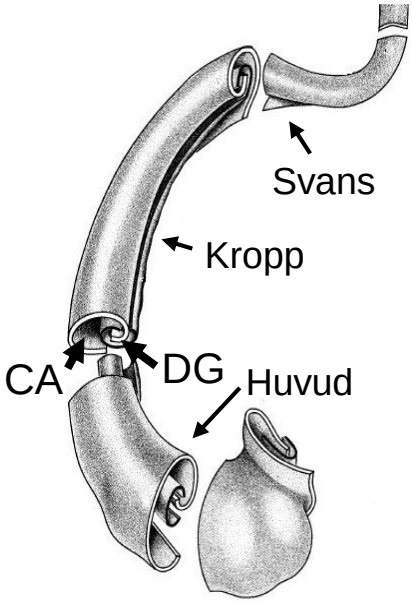
LTD
Vid initiering av LTD är det i jämförelse med LTP en mindre mängd kalciumjoner som strömmar in i den postsynaptiska cellen, vilket beror på att den synaptiska stimuleringen varit svagare (Whitlock & Moser 2009). Kalciumjonerna ger även här upphov till en signalkaskad i den postsynaptiska cellen, men de ingående komponenterna skiljer sig från de vid initiering av LTP (Kauer &Malenka 2007). Signalkaskaden kan bland annat leda till färre AMPA- och NMDA-receptorer i det postsynaptiska cellmembranet (se Fig. 10), vilket eventuellt beror på att de bryts ner, samt reducering av antalet synapser (Whitlock & Moser 2009). Detta leder sammantaget till en långvarigt försämrad synaptisk signalöverföring.



Figur 10. Översikt av initiering av LTD. Omritad från Whitlock & Moser (2009).

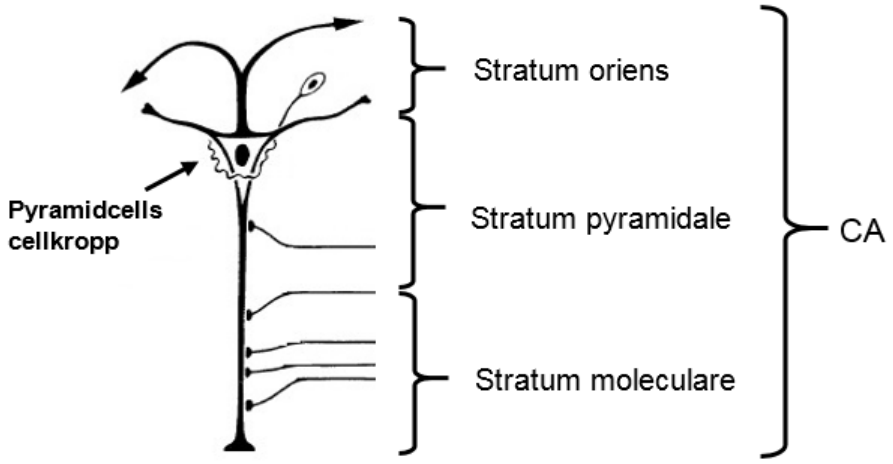
Hippocampus i detalj

Följande översiktliga sammanställning av hippocampus strukturer baseras på Duvernoy *et al.* (2005) och Purves *et al.* (2008). Hippocampus liknar en sjöhäst till formen, och det är också därifrån strukturen fått sitt namn (ty sjöhästar tillhör släktet *Hippocampus*). Hippocampus kan delas in i tre större segment; en svans, en kropp och ett huvud (se Fig. 11), och består av två lameller (tunna skivor) som kallas cornu ammonis (CA) respektive dentate gyrus (DG). Den ena lamellen är upprullad inuti den andra, vilket bildar ett slags spiralmönster (se Fig. 11 och Fig. 13).



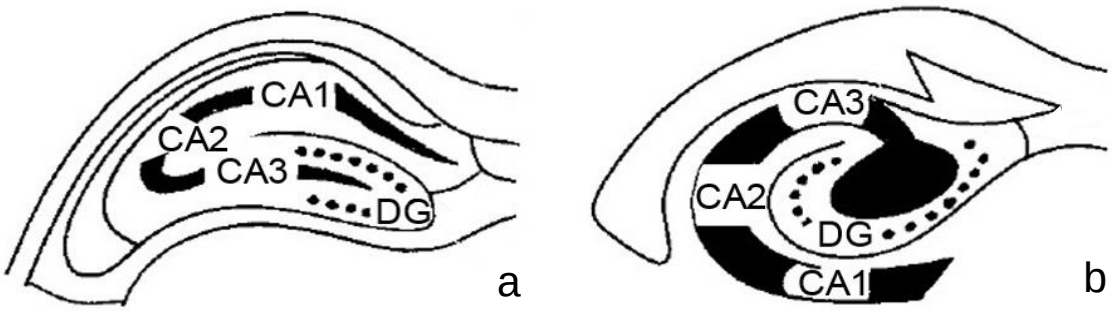
Figur 11. Genomsnitt av hippocampus i människa. Omritad från Duvernoy et al. (2005).

Cornu ammonis
CA består av sex olika lager som skiljer sig åt bl.a. i avseende på vilka typer av nervceller eller vilka delar av nervceller som finns närvarande. De sex lagren kan sammanställas i följande tre lager; stratum oriens, stratum pyramidale och stratum moleculare (se Fig. 12). I stratum pyramidale återfinns cellkropparna från den huvudsakliga nervcellstypen i CA. Denna nervcell kallas pyramidceller och dess cellkroppar är vanligen triangelformade. Axoner från pyramidceller utgår från cellkroppens bas (triangelns bas) och påträffas i stratum oriens. Pyramidcellernas dendriter utgår både från cellkroppens bas och spets och finns därför både i stratum oriens och stratum moleculare. Som kan ses i Fig. 12 sträcker sig pyramidcellerna således genom hela CA och de tar emot mycket information från omkringliggande hjärnstrukturer (notera synapserna längs en av pyramidcellens dendrit).



Figur 12. Schematisk översikt av de tre principiella lagren i CA i hippocampus. Omritad efter Duvernoy et al. (2005).

En ytterligare indelning av CA brukar göras baserat på bl.a. pyramidcelldensitet och cellkropparnas storlek då dessa varierar mellan olika delar av CA. De regionala variationerna syns tydligt när hippocampus snittas koronalt (dvs. snittet läggs så att det bildas en främre och en bakre del) och CA har beskrivits i termer av fyra fält benämnda CA1, CA2, CA3 respektive CA4. Det bör nämnas att dessa fält återfinns på olika ställen i människans och råttors hippocampus (se Fig. 13). Det beror på att rotationen av hippocampus under embryonalutvecklingen ser lite olika ut i dessa arter.

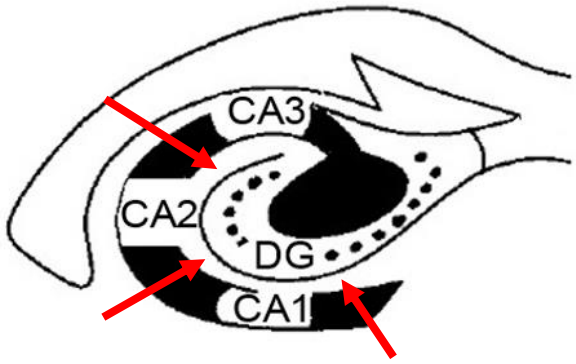


Figur 13. Arrangemang av hippocampus i råtta (a) och människa (b). CA4 är inte utritat pga. att fältet är beläget inuti DG och därmed inte kan urskiljas i bilden. Omritad från Duvernoy et al. (2005), Valenzuela et al. (2012) och Lein et al. (2007).

I CA1 är pyramidcellernas cellkroppar typiskt triangulära och generellt små och utspridda. CA2 har däremot stora ovala, tätt packade cellkroppar, vilket gör stratum pyramidale kompakt, i skarp kontrast mot stratum pyramidale i CA1. Formen av pyramidcellernas cellkroppar i CA3 är som i CA2, dock är det oklart hur tätt packade de är här. I CA3 finns också så kallade mossfibrer vilka är icke-myeliniserade axoner från en annan sorts nervceller, granulära celler, i DG. CA4 är beläget inuti den sänka som dentate gyrus bildar och i detta område är pyramidcellernas cellkroppar stora, ovala och få i antal. De är utspridda bland stora sammanflätade mossfibrer som är karaktäriserande för CA4.

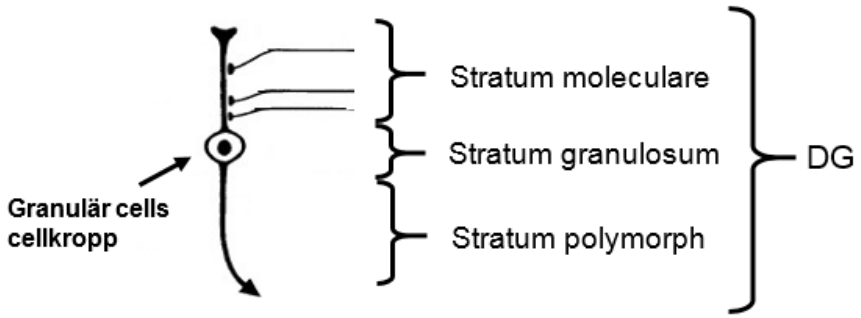
Dentate gyrus

I koronala snitt av hippocampus ses DG som en smal, konkav lamell och är separerad från CA1, CA2 och CA3 av sulcus hippocampi (en hjärnfåra i hippocampus) (se Fig. 14).



Figur 14. Pilarna visar var sulcus hippocampi är belägen i människans hippocampus. Omritad från Duvernoy et al. (2005).

DG:s struktur är enklare än CA:s och består av tre lager; stratum moleculare, stratum granulosum och stratum polymorph (se Fig. 15). Stratum granulosum är det huvudsakliga lagret och innehåller cellkroppar av granulära celler. Cellkropparna från dessa nervceller är små, runda och tätt packade, vilket gör att detta lager är enkelt att se vid koronala snitt av hippocampus. De granulära cellernas axoner går genom stratum polymorph till CA4 och CA3, så stratum polymorph kan sägas sammanlänka stratum granulosum med CA4. Från varje cellkropp utgår en dendrit som sträcker sig in i stratum moleculare. Stratum moleculare i DG är separerat från stratum moleculare i CA av sulcus hippocampi och mottar information från hjärnbarken som ska processas och eventuellt skickas tillbaka till olika delar av hjärnbarken för långtidslagring.

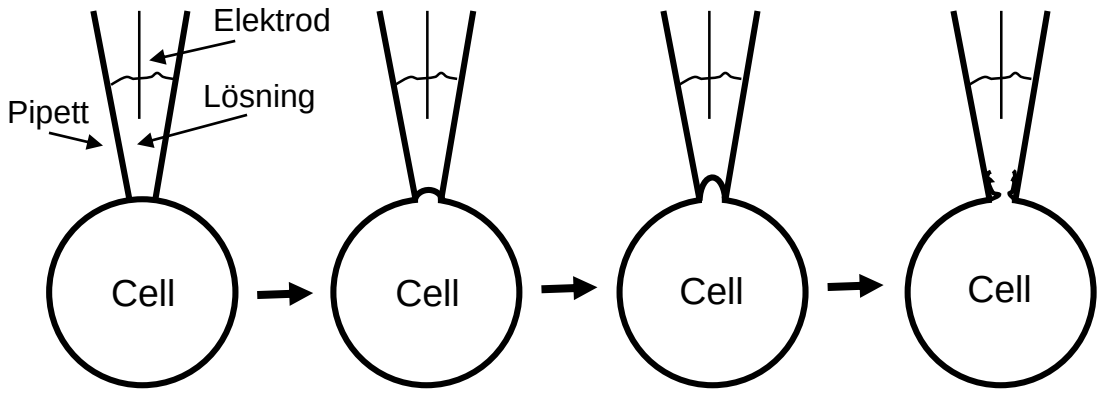


Figur 15. Schematisk översikt av de tre principiella lagren i DG i hippocampus. Omritad efter Duvernoy et al. (2005).

Metoder för att studera minne och inlärning

Elektrofysiologi
Elektrofysiologi syftar till att studera elektriska egenskaper hos enstaka jonkanaler, celler eller vävnader (Scanziani & Hausser 2009). Det finns flertalet tekniker men alla involverar elektroder som placeras i eller nära den biologiska struktur som ska undersökas, vilket gör att forskare kan mäta spänningsförändringar eller elektriska strömmar och därmed dra slutsatser om en specifik strukturs elektriska egenskaper (David Xu 2011). Nedan ges en kort presentation av två av de vanligaste elektrofysiologiska metoderna, helcells-patch-clamp och registrering av extracellulär fältpotential, vilka också använts i flera av de experiment som gett upphov till resultaten som presenteras senare i översiktsartikeln.

Helcells-patch-clamp
Denna metod kan utföras både in vitro (David Xu 2011) och in vivo (Margrie *et al.* 2002). För att utföra helcells-patch-clamp in vitro sövs djuret ner och dekapiteras. Därefter isoleras den struktur som ska studeras (i detta fall hippocampus), för att sedan snittas. En tunn glaspipett fylls med lösning, som liknar cytosolen i den cell som ska studeras, och placeras vid cellens yta. I lösningen finns en elektrod nedsänkt. En liten bit av cellmembranet sugs upp i pipetten tills det spricker, vilket bildar det helcellssystem som söks (se Fig. 16). Pipetten blir som ett förlängt cellmembran och cellens cytosol kan diffundera in i pipetten. Nu kan elektroden registrera det som experimentet avser studera. För att använda metoden in vivo krävs annan utrustning, bl.a. utrustning för att kunna söva djuret, en ställning där djuret fästs och en värmeplatta som djuret ligger på för att hålla värmen under experimentet. Principen för registrering med hjälp av pipett och elektrod är dock densamma (David Xu 2011).



Figur 16. Schematisk bildserie av hur helcellssystemet bildas. Omritad från (Li 2008).

Registrering av extracellulär fältpotential
Även denna metod kan utföras både in vivo (Chaillan *et al.* 2008) och in vitro (David Xu 2011). Ska metoden utföras in vitro föregås den av liknande process som vid helcells-patch-clamp, där det avslutas med att strukturen som ska studeras snittas. Elektroder som ska stimulera vävnaden av intresse placeras intill denna och de extracellulära fältpotentialerna registreras med hjälp av en glasmikroelektrod (David Xu 2011). Extracellulära fältpotentialer är elektriska potentialer genererade från aktionspotentialer från många nervceller och detekteras utanför cellerna själva (Spira & Hai 2013). Innan experimentet börjar mäts cellens normala extracellulära fältpotentialer i minst 20 minuter, så att en baslinje etableras. Därefter kan stimuli ges nervcellerna och deras respons registreras via elektroden. Ska registrering istället ske in vivo så gäller det, precis som för helcells-patch-clamp, att förberedelserna och

utrustningen skiljer sig åt, men metoden för registrering är densamma som ovan (David Xu 2011).

Immunoblotting
Immunoblotting, vilket också benämns western blotting, är en metod som används för att identifiera specifika makromolekyler, ofta proteiner, med hjälp av antikroppar (Poxton 1989). En immunoblot inleds med att proteiner särskiljs från övriga beståndsdelar i de insamlade cellerna eller vävnaderna genom att celler eller vävnader bryts ner så att beståndsdelar frigörs och kan separeras i en centrifug (Bjerrum & Heegaard 1988). De erhållna proteinerna skiljs sedan åt, med avseende på molekylvikt eller laddning (Murray *et al.* 2009), genom gelelektrofores (Magi & Liberatori 2005). Proteinerna överförs därefter till ett särskilt membran där de binder i samma mönster som de antagit i gelen. På membranet läggs en lösning innehållandes primära antikroppar som sen binder till de antigen (i detta fall proteiner) som söks. Därefter appliceras en lösning med sekundära antikroppar, vilka binder till de primära antikropparna. De sekundära antikropparna har vid applicering på membranet ett enzym bundet till sig och enzymet katalyserar ett tillsatt substrat till en detekterbar produkt och på så vis kan proteinerna av intresse hittas (Magi & Liberatori 2005). Denna metod är en utav de mest frekvent använda inom biologiska vetenskaper där molekyler med kända antigener ska detekteras (Poxton 1989) och har också använts i de experiment som lett till resultaten nedan.

Prenatal alkoholexponering och förändrad LTP

Molekylära förklaringsmodeller

Förändringar i uttryck och sammansättning av NMDAR-subenheter
Brady *et al*. (2013) har visat att PAE kan orsaka förändringar i LTP och att den underliggande mekanismen kan vara förändrade synaptiska nivåer av olika NMDAR-subenheter. För att komma fram till detta använde de sig av elektrofysiologi och immunoblotting på snitt från DG i hippocampus från två till fem månader gamla möss som blivit utsatta för PAE, samt snitt från en kontrollgrupp som inte utsatts för PAE. Forskarna inducerade NMDAR-beroende LTP i snitten från båda grupperna och jämförde resultaten. De såg att gruppen som utsatts för PAE hade signifikant lägre LTP jämfört med kontrollgruppen. Vid immunoblottingen fann Brady *et al.* (2013) en signifikant ökning av synaptiskt GluN1-subenhetnivåer i DG hos djur som utsatts för PAE. Detta fynd fick gruppen att vidare undersöka uttrycket av olika splicevarianter av GluN1. Av de totalt åtta splicevarianterna av GluN1 uppstår fyra från olika splicesiter i C-terminalen (Brady *et al.* 2013) och C-terminalvariatonerna påverkar bl.a. transporten av NMDARs (Horak & Wenthold, 2009). Brady *et al.* (2013) hittade en ökning av C2'-innehållande GluN1-subenheter (C2' är en specifik splicevariant av GluN1-subenheten) hos de djur som utsatts för PAE. Dessutom fann de en nivåökning av GluN3A-subenheter och en nivåminskning av GluN2B-subenhetnivåer (Brady *et al.* 2013). Det är möjligt att minskningen av GluN2B-subenhetnivåerna försämrar LTP:n då denna subenhet, som tidigare nämnts, verkar vara essentiell för LTP-inducering.

Minskat kalciuminträde
Weaver *et al.* (1993) fann att PAE signifikant minskar det NMDAR-medierade kalciuminträdet i den postsynaptiska cellen, vilket kan bero på förändringar i NMDAR-komplexet. Lee *et al.* (1994) studerade detta vidare för att försöka förstå vilken typ av förändring som skedde i NMDAR-komplexet. De undersökte hjärnceller från en dag gamla

möss och fann, liksom Weaver *et al.* (1993) att kalciumkoncentrationen var lägre hos de möss som blivit utsatta för PAE. En möjlig orsak är att etanol förändrar de strukturella egenskaperna hos NMDARs och/eller att etanolen interagerar med och förändrar inre modelleringssiter i jonkanalen där vissa av receptorns co-agonister, t.ex. Mg^{2+}, vanligen binder (Lee *et al.* 1994). På så vis kan receptorns normala funktion som jonkanal förändras. Forskning av SpuhlerPhillips *et al.* (1997) styrker också att PAE signifikant reducerar NMDAR-medierat kalciuminträde, och kom fram till att minskningen i hippocampus var hela 17 %.

NMDAR-densitet
DiazGranados *et al.* (1997) undersökte om PAE förändrade densiteten av NMDARs i bl.a. hippocampus och fann att antalet NMDARs var signifikant färre hos PAE-mössen jämfört med kontrollgruppen i samma experiment. Forskarna använde sig av MK-801, en NMDAR-antagonist (Ozyurt *et al.* 2007), för att studera huruvida densiteten förändrades eller inte, genom att undersöka i hur stor utsträckning MK-801 kunde binda till receptorerna. Resultatet visade att både pre- och postnatal exponering för alkohol ger signifikant minskning av NMDAR-densitet (DiazGranados *et al.* 1997). Abdollah & Brien (1995), som studerat hur marsvin påverkas av PAE, har konstaterat att PAE minskar densiteten av bl.a. glutamatbindningssiter i hippocampus, vilket också kan tolkas som att NMDAR-densiteten minskat.

Könsskillnader
I styckena ovan om molekylära förklaringsmodeller så har studierna visat samma resultat på både hon- och hanmöss. Det finns dock intressanta dokumenterade könsskillnader när det gäller relationen mellan PAE och LTP.

Låga glutationnivåer reducerar LTP i hanar
Patten *et al.* (2013a) har studerat interaktionen mellan LTP i DG i hippocampus och en av de viktigaste antioxidanterna i hjärnan, glutation (GSH). GSH-nivåer har tidigare visat sig minska vid PAE, vilket lett till en ökning av oxidativa skador i hjärnan (Brocardo *et al.* 2012). Denna ökning av oxidativ stress har kunnat kopplas till brister i förmågan att inducera LTP (Serrano & Klann 2004; Pellmar *et al.* 1991). Patten *et al.* (2013a) genomförde elektrofysiologi i DG in vivo varefter området dissekerades och analyserades på GSH. Det visade sig att hanarna som utsatts för PAE hade minskad LTP, medan honorna inte hade det. Dock hade både honor och hanar brist på GSH. Resultaten indikerar att GSH spelar en viktig roll i regleringen av LTP i hanar och att PAE kan orsaka reduktion av LTP genom reducering av de intracellulära lager som finns av denna antioxidant. Studien pekar på att honornas hjärna är mer resistenta mot en reduktion av GSH-nivåerna, men orsaken till denna könsmässiga skillnad är inte helt förstådd ännu (Patten *et al.* 2013a).

Glutaminsyntas uppreglerad hos honor
Sickmann *et al.* (2014) har också observerat könsskillnader med hjälp av bl.a. in vivo elektrofysiologi i DG. Hanmössen som utsatts för PAE visade en reduktion på 40 % i NMDAR-beroende LTP jämfört med kontrollgruppen som inte utsatts för PAE. Honorna som utsatts för PAE visade däremot ingen reduktion i LTP jämfört med kontrollgruppen. Efter immunoblotting kunde det fastställas att PAE-honorna hade en förhöjd halt av glutaminsyntas (GS), ett enzym som är essentiellt för glutamatlagren ska kunna återfyllas. Hanarna saknade denna uppreglering. Detta föreslår att en förändrad, troligen ökad, neurotransmittoråterfyllnad kan vara en kompensatorisk mekanism hos honorna (Sickmann *et al.* 2014).

Är graden av LTP-förändring kopplat till när och hur mycket alkohol som intas?

Samband mellan LTP-magnitud och alkoholexponering under specifika graviditetsperioder
Helfer *et al.* (2012) har undersökt om LTP-förändringar kan länkas till alkoholintag under en specifik period av graviditeten. Människans graviditet kan delas in i första, andra och tredje trimestern, som var och en består av en tremånadersperiod (Reece *et al.* 2011). Hos möss representeras den första trimestern av en människas graviditet av de 10-11 första dräktighetsdagarna, den andra trimestern motsvaras av resterande 10-11 dräktighetsdagar och den tredje trimestern motsvaras ungefär av de nyfödda mössens postnatala dag 4-9 (se Fig. 17) (Helfer *et al.* 2012).

Figur 17. Här visas en vanlig musmodell för de tre trimestrarna. DD står för dräktighetsdag och PD står för postnatal dag. Omritad från Helfer et al. (2012).

Helfer *et al.* (2012) gav två olika grupper dräktiga möss alkohol under den period som modellerar första respektive andra trimestern samt gav nyfödda han- och honmöss alkohol i enlighet med modellen för tredje trimestern. På postnatal dag (PD) 50-70 preparerades hjärnor från både hon- och hanavkomma och elektrofysiologi utfördes på snitt från hippocampus för att studera LTP-magnituden (Helfer *et al.* 2012). Resultat från elektrofysiologin visade signifikant lägre LTP-magnitud i DG från de möss som fått alkohol motsvarande andra trimestern, jämfört med både kontrollgrupper (som inte fått någon alkohol alls) och den grupp som fått alkohol motsvarande tredje trimestern. Minskningen var i jämförelse drygt 50 %. Studien av Helfer *et al.* (2012) antyder således att PAE under andra trimestern leder till signifikanta reduceringar i LTP i DG hos hon- och hanmöss.

En annan studie som gjordes ett år senare av Patten *et al.* (2013b) påvisade däremot att det generellt sett inte räcker med alkoholexponering under enbart en trimester för att orsaka långvariga brister i LTP i DG hos hanmöss. När det gäller honor visade studien att alkoholexponering under första eller andra trimestern inte orsakade några signifikanta brister i LTP i DG hos avkomman men att alkoholexponering under tredje trimestern ledde till en ökad LTP jämfört med kontrolldjuren (Patten *et al.* 2013b). Titterness & Christie (2012) har också visat att PAE kan leda till ökad LTP hos honmöss, dock då de dräktiga mössen fått alkohol under första och andra trimesterekvivalenten. Samma experiment visade att PAE under första och andra trimesterekvivalenten leder till reducerad LTP hos hanar (Titterness & Christie 2012).

Beträffande *när* under graviditeten LTP-förändringar induceras verkar således kunna skilja sig, både inom och mellan könen.

Alkoholdosens roll
Både Titterness & Christie (2012) och Patten *et al.* (2013b) visade att PAE kan leda till ökad LTP hos honmöss. Signifikanta resultat erhölls dock från alkoholexponering under olika trimesterekvivalenter; första och andra trimesterekvivalenten i studien av Titterness &

Christie (2012) respektive tredje trimesterekvivalenten i studien av Patten *et al*. (2013b). Den uppmätta blodalkoholkoncentrationen (BAK) hos de dräktiga honorna som representerar första och andra trimesterekvivalenten var 87 mg/dl (Titterness & Christie 2012) och BAK i de nyfödda mössen som representerar tredje trimesterekvivalenten var 255 mg/dl (Patten *et al*. 2013b), så dessa värden skiljer sig mycket åt (se Tabell 1).

De uppmätta BAKs i första respektive andra trimesterekvivalenten (91 mg/dl respektive 94 mg/dl) i studien av Patten *et al.* (2013b) skiljer sig dock inte mycket från BAK på 87 mg/dl för första och andra trimesterekvivalenten i Titterness & Christies (2012) studie. Trots likheten i BAK fick forskningsgrupperna olika resultat; ökad LTP hos honor och minskad LTP hos hanar i studien av Titterness & Christie (2012) respektive oförändrad LTP hos både honor och hanar i studien av Patten *et al.* (2013). Detta tyder på att det är flera faktorer som spelar in i huruvida LTP:n förändras eller inte.

Tabell 1. Sammanställning av BAK, tidpunkt för alkoholintag och LTP-förändring hos honor och hanar. Data från Titterness & Christie (2012), Patten et al. (2013b), Brady et al. (2013), Patten et al. (2013a), Helfer et al. (2012) och Sickmann et al. (2014).

BAK (mg/dl)	Trimesterekvivalent	LTP-förändring honor	LTP-förändring hanar
87	1 & 2	Ökad LTP	Minskad LTP
91	1	Oförändrat	Oförändrat
91	1 & 2	Minskad LTP	Minskad LTP
94	2	Oförändrat	Oförändrat
102	1 & 2	Oförändrat	Minskad LTP
142	2	Minskad LTP	Minskad LTP
146	1 & 2	Oförändrat	Minskad LTP
255	3	Ökad LTP	Oförändrat

Studierna av Helfer *et al.* (2012) och Sickmann *et al.* (2014) visade att BAK på drygt 140 mg/dl under andra respektive första och andra trimesterekvivalenten ledde till signifikant lägre LTP-magnitud hos samtliga hanar samt honorna med BAK på 142 mg/dl. Dessa två BAKs är nästan 60 % högre än BAK på kring 90 mg/dl som uppmättes i andra trimesterekvivalenten i studierna av Titterness & Christie (2012), Brady *et al.* (2013) och Patten *et al.* (2013b), men trots det är det svårt att säga att denna högre BAK är orsak till de observerade minskningarna i LTP eftersom de sammantagna resultaten är tvetydiga. Denna osäkerhet påvisas ytterligare i en jämförelse av studierna av Patten *et al.* (2013a) och Sickmann *et al.* (2014) som båda visar att LTP i honorna är oförändrad efter PAE medan LTP minskar hos hanarna, trots att BAK (146 mg/dl) i studien av Sickmann *et al.* (2014) är drygt 40 % högre än motsvarande koncentration (102 mg/dl) i studien av Patten *et al.* (2013a).

Genom att studera tabell 1 ovan är det rimligt att anta att förändring i LTP styrs av en mängd olika faktorer, då det är svårt att se ett direkt samband mellan t.ex. högre alkoholdos och minskad LTP hos möss. Hanar verkar dock generellt sett vara mer känsliga för PAE än honor.

Diskussion

Mekanismer
I översiktsartikeln har tre möjliga mekanismer bakom de observerade reduceringarna av NMDAR-beroende LTP i DG efter PAE presenterats; förändringar i uttryck och sammansättning av NMDAR-subenheter, minskat kalciuminträde i den postsynaptiska cellen samt lägre NMDAR-densitet.

Gällande förändring i uttryck och sammansättning av NMDAR-subenheter så kan nivåminskningen av GluN2B-subenheten vara av betydande roll, då tidigare forskning av Samudio-Ruiz *et al.* (2009) har visat att en minskning av GluN2B-subenheter kan påverka de intracellulära signalkaskader som måste ske för att LTP ska kunna induceras och bevaras. Bland annat har två utav de viktigaste kinaserna i dessa signalkaskader, ERK1 och ERK2, visat sig betydligt svårare att aktivera vid en nivåminskning av GluN2B-subenheter (Samudio-Ruiz *et al.* 2009). Förändringar i NMDAR-subenhetsuttryck har också visat sig ge en negativ påverkan på glutamats bindningsförmåga till receptorn (Barria & Malinow 2005).

Anledningen bakom det faktum att kalciuminträdet minskar i den postsynaptiska cellen efter PAE kan vara kopplat till strukturella eller numeriska förändringar av NMDARs, till exempel subenhetssammansättningen som diskuterades ovan eller densiteten av NMDARs, som diskuteras i nästa stycke (SpuhlerPhillips *et al.* 1997). Annan forskning indikerar också andra inhibitoriska effekter, utöver minskat kalciuminträde, på NMDAR-funktion efter PAE, t.ex. reduktion av glutamatbindningssiter (Kelly *et al.* 1986) och MK-801-bindningssiter (Valles *et al.* 1995). Sammantaget kan dessa förändringar resultera i permanenta rubbningar i nervsystemet (Savage & Swartzwelder 1992) och då det visat sig att NMDARs har en viktig roll i utvecklingen av neurala nätverk är förändringar i dessa receptorer ett stort problem (Constantinepaton 1994).

Den minskning av NMDAR-densitet som observerats efter PAE kan vara ett resultat av att alkoholen i sig, pga. att det är neurotoxiskt, stör proliferation och differentiering av utvecklande nervceller (Bonthius & West 1990). Beroende på under vilken trimesterekvivalent som alkoholexponeringen sker och vilken mängd som administreras så kan olika typer och grader av skador uppkomma, t.ex. har det visat sig att höga BAKs under andra trimesterekvivalenten kan ge signifikanta förluster av nervceller i bl.a. hippocampus (DiazGranadoz *et al.* 1997; Bonthius & West 1990).

Könsskillnader
Två specifika könsskillnader har lyfts fram i översiktsartikeln, nämligen att låga GSH-nivåer reducerar LTP i hanar och att GS-nivån är uppreglerad hos honor.

Både hon- och hanmössen i studien av Patten *et al.* (2013a) visade reducerade GSH-nivåer efter PAE, men trots det så reducerades LTP:n enbart hos hanarna. Anledningen till att LTP i honor inte reducerades är fortfarande okänd (Diwakar *et al.* 2007). Det finns dock studier som indikerar att honor är mer resistenta mot ämnet β-N-oxalyl amino-L-alanin (L-BOAA), vilket orsakar förlust av GSH i både honor och hanar (Diwakar *et al.* 2007). L-BOAA förekommer bl.a. i ärtväxten *Lathyrus sativus* (Rao *et al.* 1964), som odlas och äts av människor i bl.a. Asien och östra Afrika (Oudhia 1999). Ett annat viktigt ämne i sammanhanget, vilket tros agera som skydd av nervceller hos honor, kan vara glutaredoxin (Diwakar *et al.* 2007), ett enzym involverat i upprätthållande av redoxläge hos proteiner samt återvinning av GSH (Gravina & Mieyal 1993). Båda dessa mekanismer, upprätthållande av redoxläge och

återvinning av GSH, är viktiga för att minimera oxidativ stress, vilket tidigare nämnts kan reducera LTP (Serrano & Klann 2004; Pellmar *et al.* 1991).

Sickmann *et al.* (2014) kom fram till att GS-nivåerna är förhöjda hos honmöss efter PAE och GS är som tidigare nämnts ett enzym som är essentiellt för att glutamatlagren ska kunna återfyllas (Norenberg & Martinezhernandez 1979). GS inaktiveras lätt av oxidativ stress, vilket har visats öka efter PAE (Brocardo *et al.* 2011) och kronisk exponering för alkohol har visat sig leda till förändringar i GS-aktivitet hos råttor (Babu *et al.* 1994) och GS-uttryck i hippocampus hos människor (Matsumoto 2009). Sickmann *et al.* (2014) är den första grupp vars resultat indikerar att GS-uttryck är förhöjt i DG i hippocampus hos honmöss efter PAE. Om detta ökade uttryck är en kompensatorisk mekanism för att se till att glutamatlager återfylls, trots exponering för alkohol och ökad oxidativ stress, och därmed möjliggör synaptisk signalering i honornas DG, är enligt forskargruppen själv osäkert baserat på den teknik som använts.

Betydelse av alkoholdos och under vilken trimesterekvivalent alkoholexponering sker
Helfer *et al.* (2012) visade att PAE under andra trimesterekvivalenten kan leda till minskad LTP hos både honor och hanar. Detta är enligt forskarna själva den första studien att påvisa trimesterspecifika effekter av PAE på LTP i DG. Effekten liknar tidigare studier där PAE skett under första och andra trimesterekvivalenten (Christie *et al.* 2005; Sutherland *et al.* 1997), vilket kan tyda på att det var den andra trimesterekvivalenten som faktiskt var den avgörande. Under andra trimesterekvivalenten bildas bl.a. granulära celler och celler migrerar till deras framtida positioner i DG. PAE under denna trimesterekvivalent har visat sig kunna störa proliferation, migration och överlevnad av celler i bl.a. hippocampus (Barnes & Walker 1981). Det är rimligt att anta att detta kan orsaka reducering i LTP.

I två av de presenterade studierna hade honorna en ökad LTP efter PAE (Patten *et al.* 2013b; Titterness & Christie 2012). Orsaken till dessa något oväntade resultat kan möjligen kopplas till en dysreglering av östrogennivåerna i samband med PAE. Östrogennivåerna har nämligen visat sig vara högre hos honor som utsatts för PAE (Lan *et al.* 2009) och höga nivåer har kunnat kopplas till ökad LTP (Ooishi *et al.* 2012). Detta skulle kunna vara en förklaring till honornas ökade LTP under tredje trimesterekvivalenten, vilket styrks ytterligare av det faktum att östrogen börjar produceras först då (Weniger *et al.* 1993). En anledning till att hanarna hade en oförändrad LTP i DG efter alkoholexponering i tredje trimesterekvivalenten (Patten *et al.* 2013b) kan vara relaterat till det att faktum att de blev exponerade för alkohol efter att populationen av precursorceller i DG bildats, då dessa utvecklas under andra trimesterekvivalenten (Rice & Barone 2000; Dobbing & Sands 1973). Trots att ökad LTP ofta associeras med förhöjd minnes- och inlärningsförmåga finns det studier som visar det motsatta, dvs. att ökad LTP leder till sämre minnes- och inlärningsförmåga (Jeffery 1995; Vaillend *et al.* 2004) så man bör vara försiktig med att dra slutsatser gällande huruvida honor med ökad LTP har bättre minnes- och inlärningsförmåga jämfört med honor med oförändrad eller minskad LTP.

Ytterligare faktorer som kan påverka LTP efter PAE
Det är uppenbart att konsekvenserna av PAE varierar mellan olika djur och det är svårt att dra några säkra slutsatser kring vilken dos eller under vilken trimester som alkoholen gör störst skada. Förutom de faktorer som studeras inom ramen för de presenterade forskningsprojekten finns det säkerligen andra faktorer som påverkar vilken fysiologisk respons som fås. Hormoner kan tänkas vara en utav dessa faktorer och det finns studier som visar att honor som utsatts för PAE och stress inte visar en ökad LTP, jämfört med de honor som endast

utsattes för PAE och visade förhöjd LTP (Titterness & Christie 2012). Stresshormoner kan således möjligen påverka vilka konsekvenserna av PAE blir. En annan faktor som kan ha verkan på resultaten är huruvida LTP-studierna gjorts in vivo eller in vitro. Det är rimligt att anta att resultat från ett helkroppssystem och t.ex. ett snitt från hippocampus kan skilja sig åt eftersom förutsättningarna är så pass olika.

Testbara hypoteser

Gällande förändring av uttryck och sammansättning an NMDAR-subenheterna behövs det fler studier som bekräftar samma sak, och eftersom det verkar som att låga GluN2B-subenhetnivåer orsakar reducerad LTP vore det en intressant hypotes att studera vidare. Uppreglering av GS verkar vara en skyddsmekanism hos honorna, men detta behöver undersökas vidare med andra metoder för att kunna säkerställa den hypotesen. Till sist tycker jag att det vore intressant att få reda på varför ökad LTP kan leda till sämre minnes- och inlärningsförmåga. Vad är mekanismerna bakom det?

Slutsats

PAE-orsakade defekter i NMDAR-beroende LTP i DG i hippocampus kan vara relaterat till minnes-och inlärningssvårigheter via olika mekanismer, och troligen en kombination av flertalet, där alternerat uttryck och sammansättning av NMDAR-subenheter, minskat kalciuminsläpp i den postsynaptiska cellen och lägre NMDAR-densitet verkar vara viktiga kontributioner. Det finns skillnader både mellan könen och inom könen när det gäller hur djuren reagerar på PAE. Vikten av tidpunkt för alkoholexponering samt alkoholdos är svår att avgöra eftersom studier pekar åt olika håll och inte har möjlighet att analysera alla de komplexa processer som påverkar hur LTP:n eventuellt förändras efter PAE. Det är dock ingen tvekan om att PAE faktiskt påverkar NMDAR-beroende LTP i DG i hippocampus, vilket är en orsak i sig att fortsätta studera dessa intrikat styrda processer för att bättre förstå hur och när eventuella skador uppkommer, hur dessa kan lindras och till och med förhindras.

Tack

Jag vill tacka min handledare Martin Svenda för värdefulla tips och idéer kring hur översiktsartikeln kunde förbättras samt mina återkopplare William Ondusye och Cassandra Kestran för bra och viktig feedback. Vidare vill jag tacka vår kursledare Anders Ödeen för tydliga, snabba svar kring formalia samt min sambo Malin Thyselius för uppmuntran, stöd och feedback.

Referenser

Atkinson RC, Shiffrin RM. 1968. Human memory: A proposed system and its control processes. I: Spence KW, Spence JT (red.). The psychology of learning and motivation, ss. 89-195. Academic press, New York.

Abdollah S, Brien JF. 1995. Effect of chronic maternal ethanol administration on glutamate and N-methyl-D-aspartate binding-sites in the hippocampus of the near-term fetal guinea-pig. Alcohol **12**: 377-382.

Babu PP, Kumari LR, Vemuri MC. 1994. Differential changes in cell morphology, macromolecular-composition and membrane-protein profiles of neurons and astrocytes in chronic ethanol-treated rats. Molecular and Cellular Biochemistry **130**: 29-40.

Barnes DE, Walker DW. 1981. Prenatal ethanol exposure permanently reduces the number of pyramidal neurons in rat hippocampus. Developmental Brain Research **1**: 333-340.

Barria A, Malinow R. 2005. NMDA receptor subunit composition controls synaptic plasticity by regulating binding to CaMKII. Neuron **48**: 289-301.
Bear MF, Abraham WC. 1996. Long-term depression in hippocampus. I: Cowan WM (red). Annual Review of Neuroscience, ss. 437-462. Annual Reviews Inc., California.
Bjerrum OJ, Heegaard NHH. 1988. Handbook of Immunoblotting of Proteins Volume II Experimental and Clinical Applications. 1:a uppl. CRC Press, Inc., Florida.
Bonthius DJ, West JR. 1990. Alcohol-induced neuronal loss in developing rats - increased brain-damage with binge exposure. Alcoholism-Clinical and Experimental Research **14**: 107-118.
Brady ML, Diaz MR, Iuso A, Everett JC, Valenzuela CF, Caldwell KK. 2013. Moderate prenatal alcohol exposure reduces plasticity and alters NMDA receptor subunit composition in the dentate gyrus. Journal of Neuroscience **33**: 1062-1067.
Brocardo PS, Boehme F, Patten A, Cox A, Gil-Mohapel J, Christie BR. 2012. Anxiety- and depression-like behaviors are accompanied by an increase in oxidative stress in a rat model of fetal alcohol spectrum disorders: Protective effects of voluntary physical exercise. Neuropharmacology **62**: 1607-1618.
Brocardo PS, Gil-Mohapel J, Christie BR. 2011. The role of oxidative stress in fetal alcohol spectrum disorders. Brain Research Reviews **67**: 209-225.
Burd L, Martsolf JT. 1989. Fetal alcohol syndrome - diagnosis and syndromal variability. Physiology & Behavior **46**: 39-43.
Burns L, Breen C, Bower C, O' Leary C, Elliott EJ. 2013. Counting Fetal Alcohol Spectrum Disorder in Australia: The evidence and the challenges. Drug and Alcohol Review **32**: 461-467.
Chaillan FA, Truchet B, Roman FS. 2008. Extracellular recordings of rodents in vivo: their contribution to integrative neuroscience. Journal of Integrative Neuroscience **7**: 287-313.
Christie BR, Swann SE, Fox CJ, Froc D, Lieblich SE, Redila V, Webber A. 2005. Voluntary exercise rescues deficits in spatial memory and long-term potentiation in prenatal ethanol-exposed male rats. European Journal of Neuroscience **21**: 1719-1726.
Constantinepaton M. 1994. Effects of NMDA receptor antagonists on the developing brain. Psychopharmacology Bulletin **30**: 561-565.
Cullen CL, Burne THJ, Lavidis NA, Moritz KM. 2014. Low dose prenatal alcohol exposure does not impair spatial learning and memory in two tests in adult and aged rats. PLOS One **9**: 9.
Delhaye-Bouchaud N. 2001. Development of the central nervous system in mammals. Neurophysiologie Clinique-Clinical Neurophysiology **31**: 63-82.
DiazGranados JL, SpuhlerPhillips K, Lilliquist MW, Amsel A, Leslie SW. 1997. Effects of prenatal and early postnatal ethanol exposure on H-3 MK-801 binding in rat cortex and hippocampus. Alcoholism-Clinical and Experimental Research **21**: 874-881.
Diwakar L, Kenchappa RS, Annepu J, Ravindranath V. 2007. Downregulation of glutaredoxin but not glutathione loss leads to mitochondrial dysfunction in female mice CNS: Implications in excitotoxicity. Neurochemistry International **51**: 37-46.
Dobbing J, Sands J. 1973. Quantitative growth and development of human brain. Archives of Disease in Childhood **48**: 757-767.
Duvernoy H, Cattin F, Fatterpekar G, Naidich TH, Raybaud CH, Risold PY, Salvolini U, Scarabino T. 2005. The human hippocampus functional anatomy, vascularization and serial sections with MRI. 3:e uppl. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg.
Eaton LA, Pitpitan EV, Kalichman SC, Sikkema KJ, Skinner D, Watt MH, Pieterse D, Cain DN. 2014. Food insecurity and alcohol use among pregnant women at alcohol-serving establishments in South Africa. Prevention Science **15**: 309-317.

Flores-Soto ME, Chaparro-Huerta V, Escoto-Delgadillo M, Vazquez-Valls E, Gonzalez-Castaneda RE, Beas-Zarate C. 2012. Structure and function of NMDA-type glutamate receptor subunits. Neurologia **27**: 301-310.
Goransson M, Magnusson A, Heilig M. 2006. Identifying hazardous alcohol consumption during pregnancy: implementing a research-based model in real life. Acta Obstetricia Et Gynecologica Scandinavica **85**: 657-662.
Gravina SA, Mieyal JJ. 1993. Thioltransferase is a specific glutathionyl mixed disulfide oxidoreductase. Biochemistry **32**: 3368-3376.
Hebb DO. 1949. The organization of behavior. John Wiley & Sons, New York.
Helfer JL, White ER, Christie BR. 2012. Enhanced deficits in long-term potentiation in the adult dentate gyrus with 2nd trimester ethanol consumption. PLOS One **7**: 10.
Horak M, Wenthold RJ. 2009. Different roles of C-terminal cassettes in the trafficking of full-length NR1 subunits to the cell surface. Journal of Biological Chemistry **284**: 9683-9691.
Hutchinson D, Moore EA, Breen C, Burns L, Mattick RP. 2013. Alcohol use in pregnancy: prevalence and predictors in the longitudinal study of Australian children. Drug and Alcohol Review **32**: 475-482.
Jeffery KJ. 1995. Paradoxical enhancement of long-term potentiation in poor-learning rats at low test stimulus intensities. Experimental Brain Research **104**: 55-69.
Kauer JA, Malenka RC. 2007. Synaptic plasticity and addiction. Nature Reviews Neuroscience **8**: 844-858.
Kelly GM, Druse MJ, Tonetti DA, Oden BG. 1986. Maternal ethanol-consumption-binding of L-glutamate to synaptic-membranes from whole brain, cortices, and cerebella of offspring. Experimental Neurology **91**: 219-228.
Kemp JA, Foster AC, Wong EHF. 1987. Noncompetitive antagonists of excitatory amino-acid receptors. Trends in Neurosciences **10**: 294-298.
Kohr G. 2006. NMDA receptor function: subunit composition versus spatial distribution. Cell and Tissue Research **326**: 439-446.
Lan N, Yamashita F, Halpert AG, Sliwowska JH, Viau V, Weinberg J. 2009. Effects of prenatal ethanol exposure on hypothalamic-pituitary-adrenal function across the estrous cycle. Alcoholism-Clinical and Experimental Research **33**: 1075-1088.
Lee YH, Spuhlerphillips K, Randall PK, Leslie SW. 1994. Effects of prenatal ethanol exposure on N-methyl-D-aspartate-mediated calcium-entry into dissociated neurons. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics **271**: 1291-1298.
Li CH. 2008. A reliable whole cell clamp technique. Advances in Physiology Education **32**: 209-211.
Lein ES, Hawrylycz MJ, Ao N, Ayres M, Bensinger A, Bernard A, Boe AF, Boguski MS, Brockway KS, Byrnes EJ, Chen L, Chen TM, Chin MC, Chong J, Crook BE, Czaplinska A, Dang CN, Datta S, Dee NR, Desaki AL, Desta T, Diep E, Dolbeare TA, Donelan MJ, Dong HW, Dougherty JG, Duncan BJ, Ebbert AJ, Eichele G, Estin LK, Faber C, Facer BA, Fields R, Fischer SR, Fliss TP, Frensley C, Gates SN, Glattfelder KJ, Halverson KR, Hart MR, Hohmann JG, Howell MP, Jeung DP, Johnson RA, Karr PT, Kawal R, Kidney JM, Knapik RH, Kuan CL, Lake JH, Laramee AR, Larsen KD, Lau C, Lemon TA, Liang AJ, Liu Y, Luong LT, Michaels J, Morgan JJ, Morgan RJ, Mortrud MT, Mosqueda NF, Ng LL, Ng R, Orta GJ, Overly CC, Pak TH, Parry SE, Pathak SD, Pearson OC, Puchalski RB, Riley ZL, Rockett HR, Rowland SA, Royall JJ, Ruiz MJ, Sarno NR, Schaffnit K, Shapovalova NV, Sivisay T, Slaughterbeck CR, Smith SC, Smith KA, Smith BI, Sodt AJ, Stewart NN, Stumpf KR, Sunkin SM, Sutram M, Tam A, Teemer CD, Thaller C, Thompson CL, Varnam LR, Visel A, Whitlock RM, Wohnoutka PE, Wolkey CK, Wong VY, Wood M, Yaylaoglu MB, Young RC, Youngstrom BL, Yuan XF, Zhang B,

Zwingman TA, Jones AR. 2007. Genome-wide atlas of gene expression in the adult mouse brain. Nature **445**: 168-176.
Linden DJ. 1994. Long-term synaptic depression in the mammalian brain. Neuron **12**: 457-472.
Magi B, Liberatori S. 2005. Immunoblotting techniques. Methods in Molecular Biology **295**: 227-254.
Manji S, Pei J, Loomes C, Rasmussen C. 2009. A review of the verbal and visual memory impairments in children with foetal alcohol spectrum disorders. Developmental Neurorehabilitation **12**: 239-247.
Margrie TW, Brecht M, Sakmann B. 2002. In vivo, low-resistance, whole-cell recordings from neurons in the anaesthetized and awake mammalian brain. Pflugers Archiv-European Journal of Physiology **444**: 491-498.
Martin SJ, Grimwood PD, Morris RGM. 2000. Synaptic plasticity and memory: An evaluation of the hypothesis. Annual Review of Neuroscience **23**: 649-711.
Matsumoto I. 2009. Proteomics approach in the study of the pathophysiology of alcohol-related brain damage. Alcohol and Alcoholism **44**: 171-176.
May PA, Blankenship J, Marais AS, Gossage JP, Kalberg WO, Barnard R, De Vries M, Robinson LK, Adnams CM, Buckley D, Manning M, Jones KL, Parry C, Hoyme HE, Seedat S. 2013. Approaching the prevalence of the full Spectrum of fetal alcohol spectrum disorders in a South African population-based study. Alcoholism-Clinical and Experimental Research **37**: 818-830.
May PA, Gossage JP, Kalberg WO, Robinson LK, Buckley D, Manning M, Hoyme HE. 2009. Prevalence and epidemiologic characteristics of FASD from various research methods with an emphasis on recent in-school studies. Developmental Disabilities Research Reviews **15**: 176-192.
May PA, Hamrick KJ, Corbin KD, Hasken JM, Marais AS, Brooke LE, Blankenship J, Hoyme HE, Gossage JP. 2014. Dietary intake, nutrition, and fetal alcohol spectrum disorders in the Western Cape Province of South Africa. Reproductive Toxicology **46**: 31-39.
Mayer ML, Westbrook GL. 1987. Permeation and block of N-methyl-D-aspartic acid receptor channels by divalent-cations in mouse cultured central neurons. Journal of Physiology **394**: 501-527.
Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. 2009. Medical microbiology. 6:e uppl. Mosby Elsevier, Philadelphia.
Norenberg MD, Martinezhernandez A. 1979. Fine-structural localization of glutamine-synthetase in astrocytes of rat-brain. Brain Research **161**: 303-310.
Ooishi Y, Kawato S, Hojo Y, Hatanaka Y, Higo S, Murakami G, Komatsuzaki Y, Ogiue-Ikeda M, Kimoto T, Mukai H. 2012. Modulation of synaptic plasticity in the hippocampus by hippocampus-derived estrogen and androgen. Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology **131**: 37-51.
Oudhia P. 1999. Allelopathic effects of some obnoxious weeds on germination and seedling vigour of Lathyrus sativus. FABIS Newsletter **42**: 32-34.
Ozyurt B, Ozyurt H, Akpolat N, Erdogan H, Sarsilmaz M. 2007. Oxidative stress in prefrontal cortex of rat exposed to MK-801 and protective effects of CAPE. Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry **31**: 832-838.
Patten AR, Brocardo PS, Sakiyama C, Wortman RC, Noonan A, Gil-Mohapel J, Christie BR. 2013a. Impairments in hippocampal synaptic plasticity following prenatal ethanol exposure are dependent on glutathione levels. Hippocampus **23**: 1463-1475.

Patten AR, Gil-Mohapel J, Wortman RC, Noonan A, Brocardo PS, Christie BR. 2013b. Effects of ethanol exposure during distinct periods of brain development on hippocampal synaptic plasticity. Brain Sciences **3**: 1076-1094.
Pellmar TC, Hollinden GE, Sarvey JM. 1991. Free-radicals accelarate the decay of long-term potentiation in field CA1 of guinea-pig hippocampus. Neuroscience **44**: 353-359.
Poxton IR. 1989. Immunoblotting techniques. Current opinion in immunology **2**: 905-909.
Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Hall WC, LaMantia AS, McNamara JO, White LE. 2008. Neuroscience. 4:e uppl. Sinauer Associates, Inc, Sunderland.
Rao SLN, Sarma PS, Adiga PR. 1964. Isolation + characterization of beta-N-oxalyl-L-alpha,beta-diaminopropionic acid - neurotoxin from seeds of lathyrus sativus. Biochemistry **3**: 432-436.
Reece JB, Urry LA, Cain ML, Wasserman SA, Minorsky PV, Jackson RB. 2011. Campbell biology. 9:e uppl. Pearson Education, Inc, San Francisco.
Rice D, Barone S. 2000. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: Evidence from humans and animal models. Environmental Health Perspectives **108**: 511-533.
Sadler TW. 2010. Langman's medical embryology. 11:e uppl. Wolters Kluwer Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
Samudio-Ruiz SL, Allan AM, Valenzuela CF, Perrone-Bizzozero NI, Caldwell KK. 2009. Prenatal ethanol exposure persistently impairs NMDA receptor-dependent activation of extracellular signal-regulated kinase in the mouse dentate gyrus. Journal of Neurochemistry **109**: 1311-1323.
Sand O, Sjaastad ØV, Haug E, Bjålie JG. 2007. Människokroppen fysiologi och anatomi. 2:a uppl. Liber AB, Stockholm.
Savage DD, Swartzwelder HS. 1992. Effects of perinatal ethanol exposure on hippocampal formation. I: Watson RR (red). Alcohol and Neurobiology: Brain Development and Hormone Regulation, ss. 171-200. CRC Press, New York.
Scanziani M, Hausser M. 2009. Electrophysiology in the age of light. Nature **461**: 930-939.
Schacter DL. 1997. The cognitive neuroscience of memory: perspectives from neuroimaging research. Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences **352**: 1689-1695.
Serrano F, Klann E. 2004. Reactive oxygen species and synaptic plasticity in the aging hippocampus. Ageing Research Reviews **3**: 431-443.
Sickmann HM, Patten AR, Morch K, Sawchuk S, Zhang C, Parton R, Szlavik L, Christie BR. 2014. Prenatal ethanol exposure has sex-specific effects on hippocampal long-term potentiation. Hippocampus **24**: 54-64.
Spira ME, Hai A. 2013. Multi-electrode array technologies for neuroscience and cardiology. Nature Nanotechnology **8**: 83-94.
SpuhlerPhillips K, Lee YH, Hughes P, Randoll L, Leslie SW. 1997. Effects of prenatal ethanol exposure on brain region NMDA-mediated increase in intracellular calcium and the NMDAR1 subunit in forebrain. Alcoholism-Clinical and Experimental Research **21**: 68-75.
Squire LR, Stark CEL, Clark RE. 2004. The medial temporal lobe. Annual Review of Neuroscience **27**: 279-306.
Streissguth AP, O'Malley K. 2000. Neuropsychiatric implications and long-term consequences of fetal alcohol spectrum disorders. Seminars in clinical neuropsychiatry **5**: 177-190.
Sulik KK, Johnston MC, Webb MA. 1981. Fetal alcohol syndrome - embryogenesis in a mouse model. Science **214**: 936-938.

Sutherland RJ, McDonald RJ, Savage DD. 1997. Prenatal exposure to moderate levels of ethanol can have long-lasting effects on hippocampal synaptic plasticity in adult offspring. Hippocampus **7**: 232-238.

Symonds ME, Stephenson T, Gardner DS, Budge H. 2007. Long-term effects of nutritional programming of the embryo and fetus: Mechanisms and critical windows. Reproduction Fertility and Development **19**: 53-63.

Titterness AK, Christie BR. 2012. Prenatal ethanol exposure enhances NMDAR-dependent long-term potentiation in the adolescent female dentate gyrus. Hippocampus **22**: 69-81.

Vaillend C, Billard JM, Laroche S. 2004. Impaired long-term spatial and recognition memory and enhanced CA1 hippocampal LTP in the dystrophin-deficient Dmd(mdx) mouse. Neurobiology of Disease **17**: 10-20.

Valenzuela CF, Morton RA, Diaz MR, Topper L. 2012. Does moderate drinking harm the fetal brain? Insights from animal models. Trends in Neurosciences **35**: 284-292.

Valles S, Felipo V, Montoliu C, Guerri C. 1995. Alcohol exposure during brain-development reduces H-3 MK-801 binding and enhances metabotropic-glutamate receptor-stimulated phosphoinositide hydrolysis in rat hippocampus. Life Sciences **56**: 1373-1383.

Weaver MS, Lee YH, Morris JL, Randall PK, Schallert T, Leslie SW. 1993. Effects of in vitro ethanol and fetal ethanol exposure on glutathione stimulation of N-methyl-D-aspartate receptor function. Alcoholism-Clinical and Experimental Research **17**: 643-650.

Weniger JP, Zeis A, Chouraqui J. 1993. Estrogen production by fetal and infantile rat ovaries. Reproduction Nutrition Development **33**: 129-136.

Whitlock JR, Moser EI. 2009. Synaptic plasticity and spatial representations in the hippocampus. I: Gazzaniga MS (red.). The Cognitive Neurosciences, ss. 109-127. MIT Press, Cambridge.

Wood PL. 1995. The co-agonist concept: is the NMDA-associated glycine receptor saturated in vivo. Life Sciences **57**: 301-310.

Zucker RS, Regehr WG. 2002. Short-term synaptic plasticity. Annual Review of Physiology **64**: 355-405.

[Prenatal alkoholexponering påverkar minne och inlärning]: etisk bilaga

Moa Axelsson

Självständigt arbete i biologi 2014

Etisk frågeställning

Den gravidas ansvar

Jag anser att min översiktsartikels huvudsakliga etiska frågeställning är huruvida det är rätt eller fel att konsumera alkohol när man är gravid. Som blivande förälder är det ens ansvar att se till att det utvecklande barnet erhåller så få skador som möjligt, och eftersom det är vetenskapligt bevisat att alkoholkonsumtion under graviditeten kan ge fosterskador är det rimligt att gravida undviker alkohol. Ett ytterligare argument för att alkohol bör undvikas är att det i många länder finns lagar som förbjuder servering av alkohol till personer under en viss ålder (i Sverige 18 år) och rent teoretiskt kan det argumenteras för att ett foster är en person under denna åldersgräns. Å andra sidan kan det argumenteras för att kvinnan har full rätt att bestämma över sin egen kropp och att barnet i det avseendet inte har några särskilda rättigheter innan det är fött. I flera avseenden kan diskussionen komma att handla om när liv blir till och vilka faktiska rättigheter en person har.

Samhällets ansvar

Även om det är rimligt att den gravida själv bär det yttersta ansvaret för barnets hälsa så kan det finns skäl till att poängtera samhällets, särskilt myndigheter som Socialstyrelsen, ansvar. De slutsatser som dras från forskningen behöver komma allmänheten tillhanda på ett bra och icke dömande sätt så att kvinnor utifrån det kan göra medvetna val kring om de vill dricka alkohol under graviditet eller inte.

Metod

Då människor generellt sett anser att det är fel att använda människor som försöksdjur i studier om hur prenatal alkoholexponering påverkar det utvecklande barnet så har andra djur, oftast möss, använts som modelldjur. Det är dock relevant att fråga sig om vi har rätt att ta oss den friheten. Mycket forskning människor gör är för att främja vår egen art, och det är på ett sätt förståeligt eftersom det är oss själva och våra egna behov vi troligen lättast relaterar till. Samtidigt kan det anses vara ett otillräckligt argument för att det ska vara okej att värdera våra egna liv över andra arters inneboende rättighet att leva i frihet och ha ett så gott liv som möjligt.

Forskningsetik

När jag letat information till min översiktsartikel har jag fokuserat på att hitta relevanta originalartiklar från väl ansedda tidskrifter då dessa bör vara de mest tillförlitliga källorna. Till bakgrundsfakta har jag även använt mig av översiktsartiklar och akademiska läroböcker. De akademiska läroböckerna är inte granskade men eftersom fakta jag tagit från läroböckerna är så pass generellt accepterad ansåg jag att det var okej. Jag har varit noga med att ange källor i texten där jag skriver påståenden som inte är mina egna, för att tydliggöra vad som är mina och andras slutsatser. Jag har försökt att beskriva komplexiteten i min frågeställning genom att presentera forskningsresultat från olika forskningsgrupper, som dessutom studerat olika cellulära mekanismer, för att ta reda på hur prenatal alkoholexponering påverkar just inlärning och minne.