

EL ACEITE DE PESCADO ATENUA LAS CRISIS CONVULSIVAS INDUCIDAS POR HIPERTERMIA EN RATAS NEONATAS

FISH OIL ATTENUATES FEBRILE SEIZURES INDUCED BY HYPERTHERMIA IN RAT PUPS

Leopoldo E. Flores M.¹, Miguel A. Guevara¹, Alfredo Feria-Velasco.², Luís Cerdán S.³, Marisela Hernández-González.¹

mansieduas@hotmail.com / mguevara@cencar.udg.mx/ fva35671@cucba.udg.mx/ cerdans@yahoo.com.mx/ mariselh@cencar.udg.mx

Recibido: mayo 4, 2008 / Aceptado: julio 6, 2008 / Publicado: julio 17, 2008

RESUMEN. Un alto porcentaje (50-60%) del cerebro en los mamíferos son principalmente grasas o lípidos, de éstos, el 35% son ácidos grasos esenciales, en particular los llamados omegas (θ), como el Acido Docosahexanoico (DHA) y el Eicosapentanoico (EPA) llamados omega 3 (θ -3). Diversos estudios han mostrado beneficios en la salud con la implementación de los θ -3 como agentes terapéuticos en alteraciones cardiovasculares, renales, dérmicas, metabólicas, neurodegenerativas e inmunológicas. Evidencias experimentales sugieren un beneficio potencial del aceite de pescado (APE) como neuroprotector debido al alto contenido de DHA y EPA. Sin embargo, es poco lo que se conoce en cuanto a los efectos que pudieran tener sobre alteraciones nerviosas, como las crisis convulsivas. En este contexto, se ha reportado que el tipo más común de trastorno epiléptico observado en los niños son las crisis convulsivas provocadas por fiebre (CF). La incidencia es de 3-5%, con ocurrencia entre los 5 meses y 5 años de edad, y se ha propuesto que esta alteración en la vida temprana pudiera tener efectos a largo plazo, manifestándose como un síndrome de epilepsia en la vida adulta. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del APE sobre las convulsiones inducidas por hipertermia experimental en un grupo de ratas Wistar macho de 5 días de edad (grupo SAPE) cuyas madres consumieron una dieta base más un suplemento de APE (suministrado desde su infancia hasta la etapa de crianza). Este grupo se comparó con otro grupo de ratas de la misma edad y cepa (grupo SAPA) cuyas madres consumieron una dieta base más un suplemento de aceite de palma (suministrado desde su infancia hasta la etapa de crianza), y con un tercer grupo de ratas (grupo CTRL) cuyas madres consumieron la dieta base más agua bidestilada como suplemento. Las ratas tratadas con APE presentaron mayor resistencia a la elevación de la temperatura corporal inducida por la hipertermia, una menor frecuencia de las crisis convulsivas asociadas a temperatura corporal elevada y menor duración y severidad de las convulsiones cuando se compararon con las ratas del grupo SAPA y CTRL. Estos resultados sugieren que el suministro crónico de APE como suplemento crónico adicional a la dieta diaria de ratas Wistar en proceso de crianza, puede asociarse en sus crías, a una mayor resistencia a la hipertermia y a la presentación de episodios convulsivos provocados por elevada temperatura corporal, a un menor número de convulsiones y menor severidad de estas. Se concluye que el aceite de pescado puede tener efectos neuroprotectores, una propiedad de este producto natural que ha sido reportada en otros estudios.

ABSTRACT. In the mammalian brain, fats or lipids represent a high percentage (50-60%); 35% are essential fatty acids, particularly the omegas (θ), such as the Docosahexanoic Acid (DHA) and the Eicosapentanoic Acid (EPA) named omega-3 (θ -3). Several studies have indicated health benefits with implementation of the omega-3 as therapeutic agents in cardiovascular, kidney, skin, metabolic, neurodegenerative and immunologic health alterations. Experimental evidences have suggested potential benefits of fish oil (FO) as neuroprotector due to their high DHA and EPA contents. However, little is known of the omega-3 effects on nervous system alterations as febrile seizures (FS). In this regard, FS is

the common seizure type in the early life. An incidence of 3-5% occurs between 5 months and 5 years of age. Furthermore, subsequent research had suggested that prolonged FS in infancy can lead long-term effects and could be related to an epileptic syndrome during adulthood. The aim of the present study was to evaluate the FO effect on seizures induced by experimental hyperthermia, in five day-old male Wistar rats (SAPE group), whose mothers consumed basic diet and daily received FO (from infancy until breeding period). SAPE group was compared with other group (SAPA), in which their mothers consumed basic diet and daily received palm oil (PO) (from infancy until breeding period), and with a third control group (CTRL group), in which their mothers consumed basic diet plus bidistilled water. All mothers received the solutions by administration through an intragastric cannula. Results showed that chronic FO supplementation during breeding process (throughout the pregnancy until 5 days-old), was associated in the pups of the SAPE group with significant resistance to temperature elevation, low frequency of the convulsive episodes, and less severity of seizures, as compared to what was observed in pups from SAPA and CTRL groups.

PALABRAS CLAVE. Omega-3, epilepsia, mioclonias, hipertermia, roedores.

KEYWORDS. Omega-3, epilepsy, mioclonies, hyperthermia, rodent pups.

¹ Instituto de Neurociencias, CUCBA, Universidad de Guadalajara, Francisco de Quevedo no. 180, Col. Arcos Vallarta, CP 44130, Guadalajara, Jalisco, México.

² Depto. de Biología Celular y Molecular, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, Carretera Guadalajara-Nogales, Las Agujas, Nextipac Zapopan, Jalisco, México.

³ Garibaldi 2565-2, Col. Ladrón de Guevara, CP. 44680, Guadalajara, Jalisco, México

Introducción

El sistema nervioso central (SNC), y particularmente el cerebro, contiene la mayor concentración de lípidos, después del tejido adiposo. Los lípidos cerebrales contienen alta cantidad de ácidos grasos y son los mayores constituyentes de las membranas neuronales. Asimismo, el 35% de éstos, son fundamentalmente ácidos grasos omegas y particularmente omega-3 [17]. En los mamíferos, los requerimientos de ácidos grasos omega-3 (θ -3) son vitales, especialmente durante el desarrollo del feto y durante los primeros meses de vida (50). Se han realizado múltiples estudios con el objeto de determinar si los θ -3 confieren cierta protección al sistema nervioso en contra de algún daño. Diversos trabajos en las áreas de inmunología [28] neuroquímica [7,48,51], histología [9,29], neurofisiología [24,53] y de la conducta [10-21-49] entre otros, han mostrado efectivamente que la administración o consumo de θ -3 se asocia a efectos benéficos en la funcionalidad cerebral. Los θ -3, específicamente el Acido Docosahexanoico (DHA) y el Eicosapentanoico (EPA), son parte constitutiva de las membranas neuronales [16]; sin embargo, la utilización de estas moléculas en forma pura requiere de un manejo cuidadoso, ya que sufren un proceso de oxidación en forma inmediata y su costo es mayor en comparación con moléculas de θ -3 contenidas en productos alimenticios naturales como la linaza o el aceite de pescado [8]. A la fecha es poco lo que se conoce respecto al efecto de los θ -3 sobre alteraciones neurológicas como las crisis convulsivas. En este contexto, se ha reportado que el trastorno epiléptico más común observado en los niños son las *Convulsiones febriles o Fiebre con convulsiones* (CF) [22-27-46], definidas por la Liga Internacional Contra la Epilepsia, como “una convulsión que ocurre entre el primer mes de vida y los cinco años de edad, la cual está asociada a un estado de fiebre no causado por infección en el sistema nervioso central, sin convulsiones neonatales previas, y sin diagnóstico previo de otras convulsiones sintomáticas” [25]. La incidencia fluctúa entre el 2-5% [19,23], aunque recientemente en la India se ha reportado una cifra aproximada al 10% [25,35]. Se ha propuesto que esta alteración durante la infancia pudiera estar asociada en la vida adulta del sujeto a la generación de esclerosis mesial y por lo tanto, estar ligada a la aparición de epilepsia del lóbulo temporal [30,43]. Sin embargo, a la fecha se desconoce la etiología de las CF. Por otra parte, se han desarrollado diversos modelos animales para investigar las bases fisiológicas de las CF, en ellos se utiliza generalmente una fuente de calor externa para aplicarla sobre los animales, es decir, se genera una condición de hipertermia en donde las convulsiones generadas se denominan “convulsiones por hipertermia” (CPH) [6,13]. Mediante este método, en diversos estudios se han encontrado entre otros, factores que pudieran asociarse a las CPH, como por ejemplo; la hiperexcitabilidad de algunas regiones cerebrales activadas por citocinas endógenas como la interleucina-1 β (IL-1 β) [20,37], la alteración del pH en el tejido neuronal [42], alteraciones genéticas [36] y específicamente de genes que codifican para la subunidad δ del receptor GABAérgico-A [14], o la inactivación de la Glutamato-decarboxilasa (GAD), la cual se ha reportado ser lábil a temperaturas superiores a los 39°C en los primeros cinco días de vida en la rata [3]. En este contexto, se ha reportado en humanos, una mayor resistencia a la aparición de fiebre cuando dos días previos a la inoculación de toxinas bacterianas, los sujetos recibieron por vía i.v. aceite de pescado [33,38]. Por otra parte, se ha observado en ratones, que la aplicación del DHA y EPA modifica la excitabilidad neuronal, por elevación del umbral de estimulación ante la aplicación de convulsionantes como el pentilentetrazol y glutamato (53). En ratas se ha observado que la aplicación de DHA y EPA bloquea la activación de los canales de Na⁺ inducida por la Batracotoxina, al unirse directamente a las proteínas del canal (24) Asimismo, en ratas, el DHA y EPA aplicados en forma sistémica provocan un incremento en el umbral de disparo en neuronas cerebrales sobreestimuladas eléctricamente [52]. En humanos, se ha reportado en pacientes epilépticos, una reducción de los periodos de crisis convulsivas después de haber recibido un suplemento alimenticio abundante en θ -3 por seis meses [41]. Con base en los antecedentes anteriores, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del aceite de pescado sobre el patrón de convulsiones inducidas por hipertermia experimental en ratas neonatas de 5 días de edad, cuyas madres recibieron durante toda la gestación y parte de la lactancia, el suplemento alimenticio por vía intragástrica más la dieta comercial.

Materiales y métodos

Animales y dietas

El cuidado de los animales, así como todos los procedimientos en los que estos participaron, fueron aprobados por el Comité de Ética del Instituto de Neurociencias del CUCBA, de la Universidad de Guadalajara, el cual sigue los lineamientos propuestos por la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio, (National Institutes of Health. (Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Science, National Research Council, 1996).

Dieciocho ratas hembra de la cepa Wistar con peso entre 45-50 g ó 45 días de edad, fueron divididas en tres grupos:

El grupo (SAPE) constituido por 6 hembras, que fueron alimentadas *ad libitum* con una dieta comercial (Chow-5001 Ralton-Purina Co., USA), y adicionalmente se les administró diariamente, por vía intragástrica, un suplemento de aceite de pescado (*Lab. Diet Labs®USA*) a una dosis de 200 mg/kg de peso.

El grupo (SAPA) constituido por 6 hembras, que fueron alimentadas *ad libitum* con una dieta comercial (Chow-5001 Ralton-Purina Co., USA), y adicionalmente se les administró diariamente, por vía intragástrica un suplemento de aceite de palma (*Spectrum Chem. MFG Corp,® USA*) a una dosis de 200 mg/kg de peso.

El grupo (CTRL) constituido por 6 hembras, las cuales fueron alimentadas *ad libitum* con una dieta comercial (Chow-5001 Ralton-Purina Co., USA), y adicionalmente se les administró diariamente, por vía intragástrica, 200 µl de agua bidestilada.

Las hembras de los tres grupos iniciaron sus respectivos tratamientos a partir de los 45 días de edad y se conservaron en este tratamiento durante el apareamiento, gestación y etapa de lactancia.

La composición de los suplementos y de la dieta base con que fueron alimentadas las ratas madres se detallan en la [tabla 1](#)

Tabla 1. Principales ácidos grasos contenidos en el aceite de palma, aceite de pescado, y en la dieta base (g/100g de ácidos grasos).

Nombre	formula	(1) aceite de palma	(2) aceite de pescado	(3) dieta base
Mirístico	C14:0	0.5-5.9	6.51	--
Palmitico	C16:0	32-47	17.62	13.03
Esteàrico	C18:0	2-8	3.39	4.02
Oleico	C18:1	33-44	17.84	23-66
Linoleico	C18:2	7-12	13.99	51.6
Linolènico	C18:3	--	2.44	4.98
	C20:5 (n-3)	--	13.55	0.6
EPA	C22:5 (n-3)	--	2.31	0.2
DHA	C22:6 (n-3)	--	11.76	--

1) Palm oil (Spectrum Chemical Mfg Corp. USA)

2) Fish oil (Omega/Rx Zone Labs. USA)

3) Laboratory Rodent Chow (5001 Purina, Mills Co., USA)

Apareamiento

Cuando las hembras de los tres grupos alcanzaron los 135 días de edad, se colocaron en apareamiento programado con machos de la misma cepa con un peso entre 350-400 g. Al día siguiente se confirmó la presencia de espermatozoides y la formación de tapón vaginal, ese día se consideró como el día 1° de gestación. Las hembras se alojaron en el bioterio en jaulas individuales a una temperatura de 20-22°C, en ciclo luz-obscuridad 12 X 12 h y fueron alimentadas con la dieta y el suplemento alimenticio correspondiente, proceso que abarcó toda la gestación y lactancia. El primer día después del nacimiento, cada camada se ajustó a un número de 8 crías, en que se conservó el mayor número de machos posible. A los 5 días de edad, 16 crías macho de cada uno de los diferentes grupos (cuyas madres recibieron desde antes de la gestación el tratamiento con aceite de pescado, de palma o agua bidestilada) fueron expuestas a un método experimental de hipertermia [6] durante 30 minutos. En forma breve, el método de hipertermia consistió en lo siguiente:

El día del experimento, las crías fueron separadas de su madre y llevadas a un cuarto de registro (4 X 4 m.) que se mantuvo a una temperatura ambiente de 20-21°C. Se colocaron 2 sujetos experimentales dentro de un vaso de precipitado de 3L (Pyrex,®), el cual estuvo acondicionado inicialmente a una temperatura ambiente de 20°C. El experimento inició cuando mediante una secadora de pelo se aplicó flujo de aire caliente hacia el interior del contenedor (vaso de precipitado), el movimiento de la secadora se realizó en forma circular y el flujo de aire se aplicó 50 cm por encima de los sujetos experimentales. La corriente de aire se mantuvo durante 90 seg, al término de este periodo el sujeto se sacó del contenedor y se procedió a registrar su temperatura rectal, maniobra que duró aproximadamente 30 seg. Al término de este lapso, cada sujeto fue colocado nuevamente dentro del recipiente y se le expuso nuevamente al aire de la secadora durante otros 90 seg., la maniobra se repitió 13 veces de tal manera que el experimento duró 30 min. Durante este periodo, los sujetos experimentaron un incremento gradual de la temperatura corporal de 33°C hasta 43°C. Al final, cada sujeto fue colocado sobre una superficie fría durante 30 min., se le rehidrató con agua bidestilada, con monitoreo de su estado durante 30 min hasta su total recuperación.

Durante todo el proceso de gestación y lactancia se registró el peso de las madres y de las crías, así como el consumo de alimento y agua. La aplicación de los tratamientos se realizó diariamente entre las 21:00 y 22:00 hrs. Todos los procedimientos de hipertermia fueron videograbados para la posterior evaluación conductual.

Las conductas evaluadas durante el proceso de hipertermia y que se determinaron de acuerdo con la escala de Racine [39], fueron las siguientes:

1. Mioclonias
2. Deambulación o marcha
3. Movimientos de la cola
4. Descanso
5. Pérdida de la postura

Para cada una de las conductas y para las variables de temperatura, peso corporal y consumo de alimento se aplicó un Análisis de Varianza de un factor. Las diferencias entre grupos se analizaron mediante la prueba de Tukey y el intervalo de confianza fue de $p < 0.05$.

Resultados

Peso corporal y consumo de alimento en ratas madre de los sujetos experimentales

No se encontraron diferencias significativas al comparar los pesos registrados en las madres de los sujetos experimentales de los diferentes grupos, desde el día que iniciaron el tratamiento (45 días de edad) hasta los días previos al apareamiento ([figura 1](#)). Tampoco se encontraron diferencias significativas entre los tres grupos en cuanto al consumo promedio diario de alimento ([figura 2](#)).

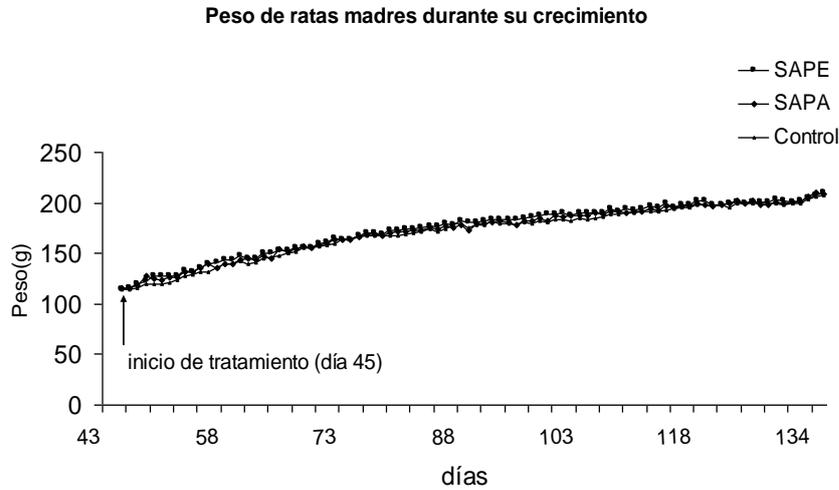


Figura 1. Media del peso corporal de las hembras Wistar de los diferentes grupos a través de los días de tratamiento, hasta los días previos al apareamiento (n=6 por grupo).

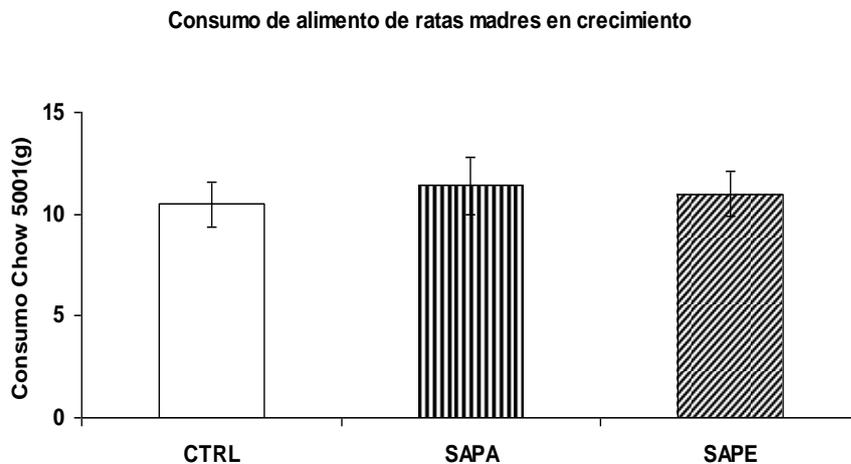


Figura 2. Media \pm ES de la cantidad de alimento consumido por las hembras de los diferentes grupos desde los 45 días de edad y hasta la etapa de apareamiento (n=6 por grupo).

Peso corporal de las crías

El peso corporal de las crías provenientes de las madres con los diferentes tratamientos, no presentó diferencias entre los diferentes grupos durante los primeros cinco días de vida ([figura 3](#)). En el quinto día los sujetos fueron expuestos a la hipertermia.

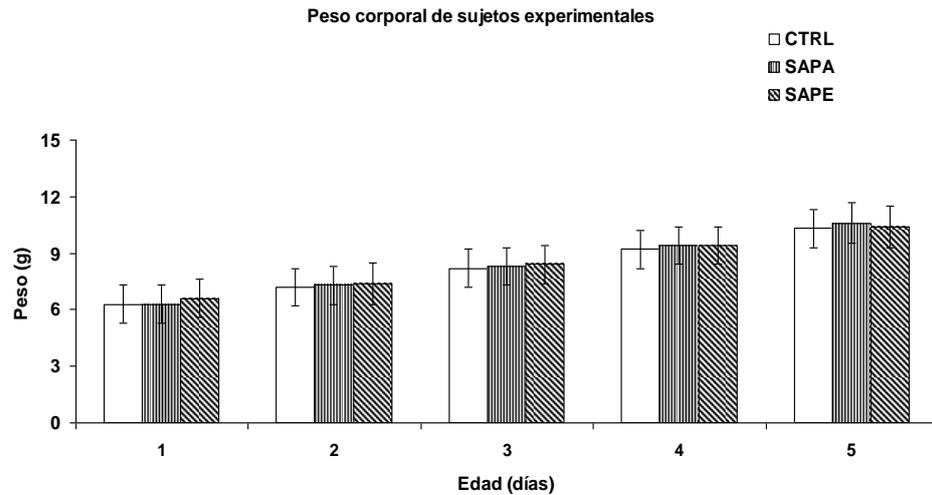


Figura 3. Media \pm ES del peso corporal (g) de los sujetos de los diferentes grupos durante los primeros cinco días de vida (n=16 por grupo)

Temperatura corporal durante la Hipertermia

Los datos de la temperatura rectal registrada en cada uno de los sujetos de los diferentes grupos durante los 30 min que duró el proceso de hipertermia, mostraron que no hubo diferencias significativas entre los grupos al comparar estadísticamente los primeros dos minutos del experimento de hipertermia [(2,45) $f=0.74$] $p=0.51487$.

Sin embargo, a partir del minuto cuatro, el grupo SAPE mostró valores de temperatura corporal significativamente menores [(2,45) $f=6.85$] $p<0.01$ en comparación con los grupos SAPA y CTRL; esta diferencia estadísticamente significativa se mantuvo hasta el final del experimento [F (2,45) = 6.85] $p<0.01$]. Los sujetos de los grupos SAPA y CTRL alcanzaron temperaturas de 38-39°C desde los 12 min, en tanto que los sujetos del grupo SAPE alcanzaron estas altas temperaturas hasta el final del proceso de hipertermia (30 min) ([Figura 4](#)).

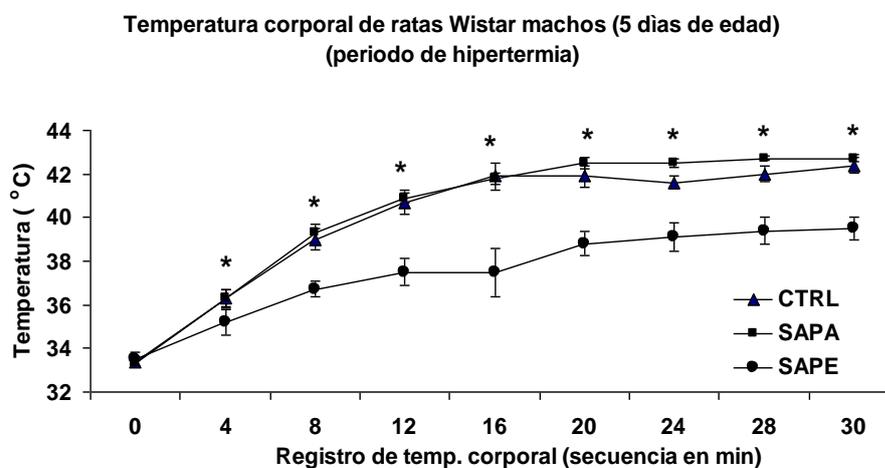


Figura 4. Media \pm ES de la temperatura corporal manifestada por los sujetos de los diferentes grupos en relación al tiempo (min) que estuvieron expuestos a hipertermia. Se observa que los grupos CTRL y SAPA registraron temperaturas más altas que el grupo SAPE a partir del min 4. Asimismo, se aprecia que la temperatura corporal de los sujetos del grupo SAPA fue mayor que la registrada en los sujetos del grupo control entre el min 20 y 30 de la hipertermia.* $p < 0.01$ SAPE significativamente menor que SAPA y CTRL ($n=16$ por grupo).

Los grupos SAPA y CTRL mostraron una menor latencia (14 min) para manifestar en promedio una temperatura de 39°C en comparación con los sujetos del grupo SAPE en quienes la latencia para alcanzar la temperatura de 38.9°C fue significativamente mayor (30 min). La temperatura alcanzada por los grupos SAPA y control a los 30 min fue en promedio de 41.3 y 41.7°C , respectivamente.

Resultados conductuales

Los estados conductuales descritos en la metodología, en su mayoría se presentaron en forma secuencial, es decir, los animales presentaban mioclonias a lo cual procedían movimientos de marcha o deambulación (con o sin movimiento de la cola), posteriormente se detenían (podían presentar o no mioclonias durante este estado), en la misma secuencia perdían el control de la postura, se podían incorporar a una postura normal de cuadrípedestación o perder el control de la postura en forma intermitente, acompañado ésto por mioclonias (ver [figura 5](#)).

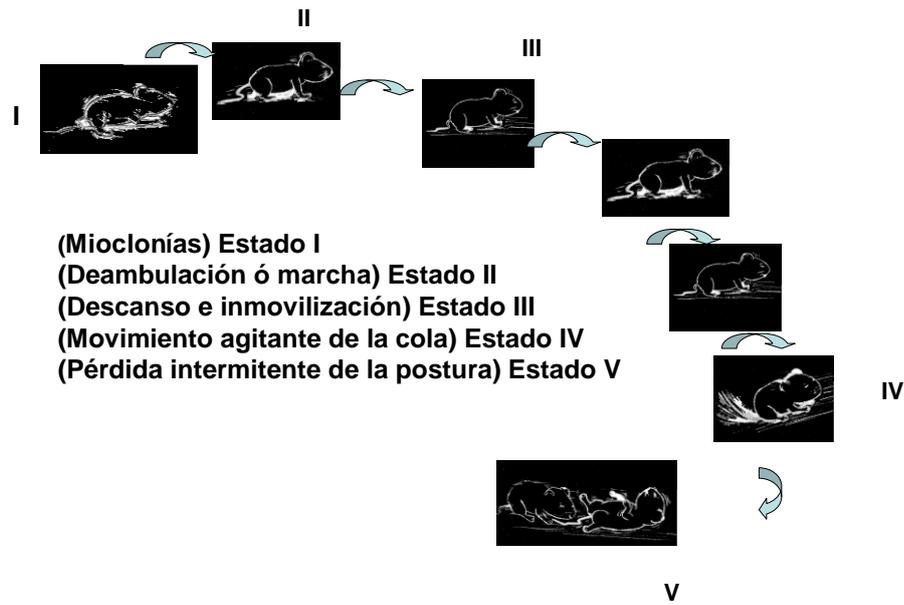


Figura 5. Conductas desplegadas por las crías durante el proceso de hipertermia.

Es importante hacer notar que el estado 1 y 5 son semejantes al estado I y V de la escala de Racine [39], con la cual se han evaluado el *Kindling* eléctrico ó químico en la rata. Al realizar el conteo total de mioclonías presentadas por cada sujeto en cada uno de los diferentes grupos, se encontró que las crías del grupo SAPE experimentaron significativamente menor número de mioclonías al ser comparadas con el grupo CTRL ($F(2,45)=7.24, p<0.05$) (figura 6).

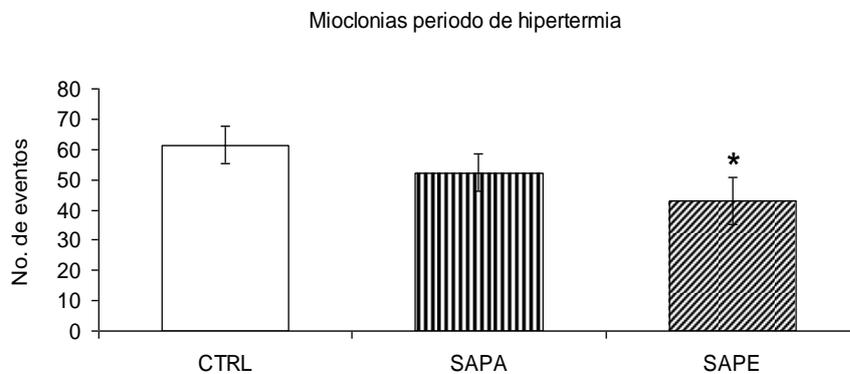


Figura 6. Media \pm ES del total de mioclonías presentadas por los sujetos de los diferentes grupos durante los 30 min. de hipertermia. El grupo SAPE presentó menor número de mioclonías, que el grupo CTRL. No hubo diferencias entre el grupo SAPE y el grupo SAPA * $p<0.05$ SAPE significativamente menor que CTRL (n =16 por grupo).

Al evaluar el número de mioclonías que ocurrieron después de la primera pérdida de postura en forma intermitente (estado V), se encontró que los sujetos del grupo SAPE mostraron significativamente menor número de mioclonías después de la aparición de pérdida de postura en forma intermitente, al ser comparados con los grupos CTRL y SAPA ($F(2,45) = 16.49, p < 0.05$) (figura 7).

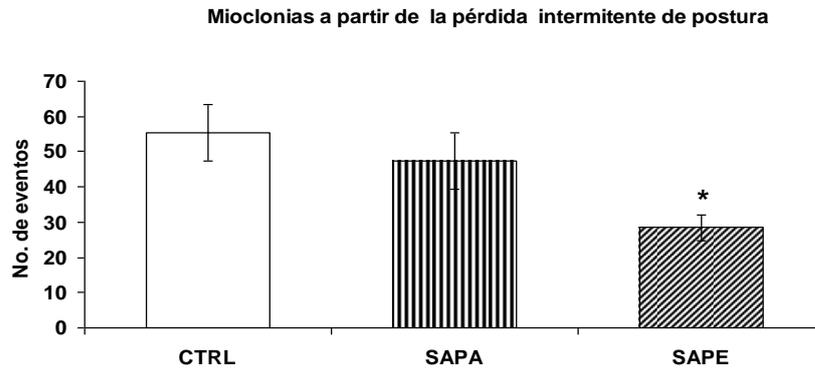


Figura 7. Media \pm ES del número de mioclonias en cada uno de los grupos después de haber presentado la primera pérdida de postura intermitente (estado V). Nótese que el grupo SAPE mostró un menor número de mioclonias que los grupos SAPA y CTRL. * $p < 0.05$ SAPE significativamente menor que SAPA y CTRL (n=16 por grupo).

En cuanto a los eventos de marcha o deambulación, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos [$F(2,45) = 1.06$, $p = 0.35531$]. Respecto a los eventos de descanso durante la hipertermia, se observó que el grupo SAPE y el grupo CTRL registraron menor número de descansos que el grupo SAPA, sin embargo estadísticamente no hubo diferencias entre los tres grupos [$F(2,45) = 2.15$, $p = 0.12$] (figura 8).

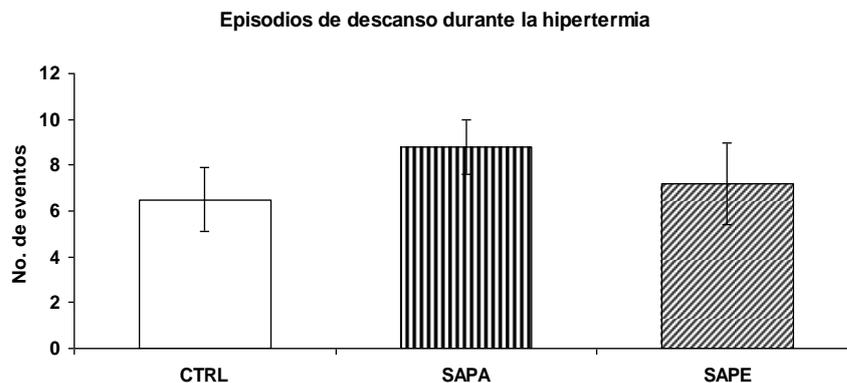


Figura 8. Media \pm ES de la cantidad de veces que los sujetos de los diferentes grupos se detenían o descansaban después de deambular o iniciar una marcha durante la HP. El grupo SAPA mostró en promedio mayor número de descansos que los grupos SAPE y CTRL, sin embargo, las diferencias entre los 3 grupos no fueron estadísticamente significativas (n=16 por grupo).

En cuanto al movimiento intermitente o de latigqueo de la cola, se encontró que el grupo SAPE registró significativamente un menor número de movimientos de este tipo, al compararlos con los del grupo CTRL y del grupo SAPA [F (2,45)= 44.24, $p < 0.01$]. El grupo SAPA mostró significativamente un mayor número de movimientos de latigqueo de la cola que el grupo CTRL y el grupo SAPE [F (2,45)= 44.24, $p < 0.01$]. ([figura.9](#)).

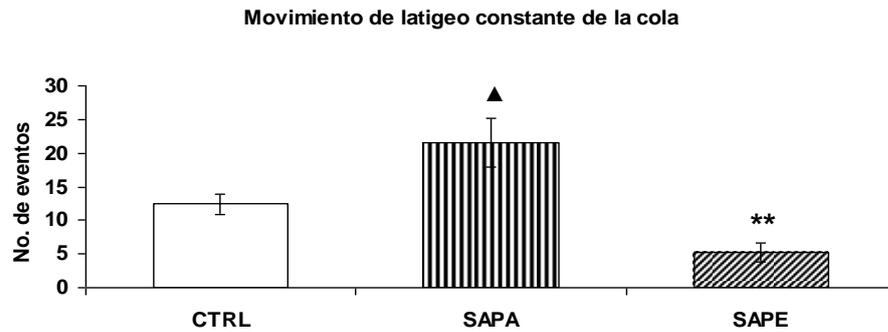


Figura 9. Media \pm ES del número de movimientos intermitentes de la cola en forma de latigqueo manifestados por los sujetos de los diferentes grupos. El grupo SAPE registró una menor cantidad de eventos que el grupo control y el grupo SAPA. Este último mostró también en promedio un mayor número de eventos respecto al grupo CTRL. * $p < 0,01$ SAPE significativamente menor que SAPA y CTRL, ▲ $p < 0.01$ SAPA significativamente mayor que SAPE y CTRL (n=16 por grupo).

Por lo que respecta a la latencia de aparición de la primera pérdida incontrolable de la postura, se encontró que los sujetos del grupo SAPE registraron significativamente mayores latencias para mostrar esta conducta en comparación con los sujetos de los grupos CTRL y SAPA (F(2,45)= 48.80, $p < 0.01$). No hubo diferencias significativas entre los grupos CTRL y SAPA ([figura 10](#)).

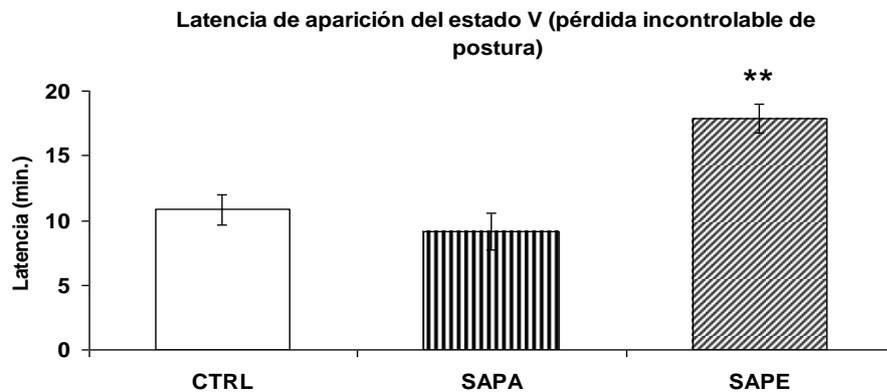


Figura 10. Media \pm ES de la latencia para la primera pérdida incontrolable de la postura en los sujetos de cada uno de los diferentes grupos. Se observan diferencias entre el grupo SAPE con el grupo SAPA y el grupo CTRL. Aunque se aprecian diferencias entre el grupo CTRL con el grupo SAPA, éstas no fueron estadísticamente significativas (n=16 por grupo). ** $p < 0.01$ SAPE significativamente mayor que SAPA y CTRL

En cuanto a la pérdida del control de la postura (estado V), los sujetos del grupo SAPE registraron significativamente un menor número de pérdidas incontrolables de la postura en comparación con los grupos CTRL y SAPA [$F(2,45)=32.31$, $p < 0.01$]. Entre los grupos CTRL y SAPA no hubo diferencias significativas ([figura 11](#)).

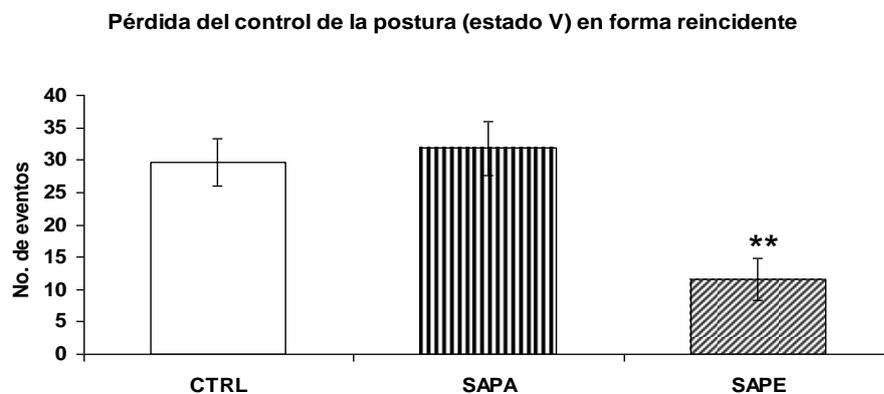


Figura 11. Media \pm ES del número de veces que los sujetos de los diferentes grupos perdieron el control de la postura en forma reincidente. El grupo SAPE mostró un menor número de eventos que los grupos SAPA y CTRL. Las diferencias entre éstos dos últimos grupos no fueron significativas ** $p < 0.01$ SAPE significativamente menor que SAPA y CTRL (n=16 por grupo).

Al analizar el tiempo de permanencia en un estado incontrolable de la postura, se encontró que los sujetos del grupo SAPE permanecieron significativamente menor tiempo en esta condición que los sujetos del grupo CTRL y SAPA [$F(2,45)=48.8$ $p < 0.01$]. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los sujetos de estos dos últimos grupos ([fig.12](#)).

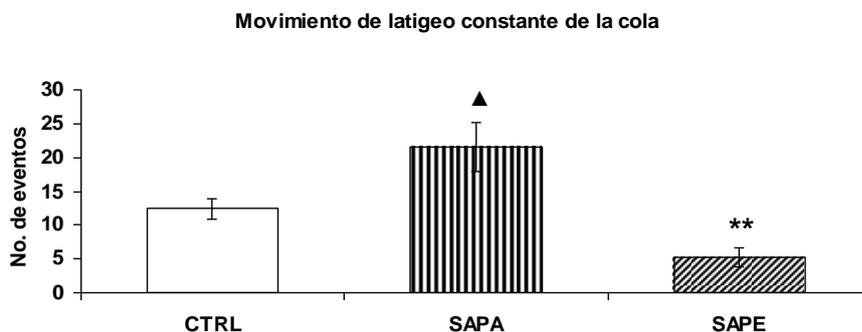


Figura 12. Media \pm ES del tiempo (minutos) que los sujetos de los diferentes grupos permanecieron en un estado incontrolable de la postura (estado V). El grupo SAPE mostró una menor duración del estado V que los grupos SAPA y CTRL. Aunque se observan diferencias entre los grupos CTRL y SAPA, éstas no fueron estadísticamente significativas * $p < 0.01$ SAPE significativamente menor que SAPA y CTRL ($n = 16$ por grupo).

Discusión

Los resultados de estos experimentos muestran que el suministro crónico de aceite de pescado dado a ratas Wistar como suplemento desde los 45 días de edad y hasta la etapa de lactancia, protegió a sus crías de experimentar elevadas temperaturas durante el proceso de hipertermia y evitó que las alteraciones producidas durante este periodo de hipertermia experimental, fueran tan severas como las observadas en un grupo de crías a cuyas madres se les dio un suplemento de aceite de palma y con otro grupo a cuyas madres se les dio como suplemento, agua bidestilada. Gran cantidad de evidencias [7-21-26-40-49], han mostrado el efecto benéfico y neuroprotector que tienen los ácidos grasos insaturados de cadena larga (omega-3). En especial, el ácido docosahexanoico (DHA) y ácido eicosapentanoico (EPA). Ambos se encuentran en altas concentraciones en el aceite de pescado (AP). Sin embargo, la dosis que debe suministrarse, ya sea en la dieta o como suplemento adicional a ésta, debe calcularse adecuadamente ya que el consumo de este tipo de ω -3 puede aumentar la lipoperoxidación (LP) y consecuentemente provocar daño al ADN [34]. Se ha reportado que los fosfolípidos de la membrana celular son un blanco ideal para la LP en particular la parte que corresponde al DHA [44].

En el presente trabajo la cantidad de aceite de pescado que suministramos diariamente a cada una de las ratas al parecer, no alteró en gran medida el consumo de energía y/o el metabolismo, situación que se reflejó en la cantidad de alimento consumido y el peso registrado diariamente, parámetros que no difirieron de los registrados en el grupo control y los obtenidos en el grupo de madres a las que se les dio aceite de palma. Asimismo, tampoco encontramos diferencias entre los diferentes grupos en el peso corporal de las crías durante los primeros cinco días de vida.

Una posible explicación a esta no afectación del peso corporal, es que la dosis de los aceites, tanto el de palma como el de pescado, proporcionaron diariamente sólo una décima parte de las calorías necesarias para cada uno de los animales, por lo que no se alteró en gran medida el metabolismo de los mismos. Se ha reportado que el requerimiento diario de calorías para el mantenimiento de una rata adulta (200 g de peso) es de 10 a 12 Kcal [4]. En nuestros experimentos, en cada dosis, proporcionamos 1.2 Kcal es decir,

una décima parte del requerimiento diario de energía. La razón por la que suministramos esta dosis se debe a que se ha reportado, en otros trabajos, que el suministro crónico de AP en la rata pudiera provocar una disminución del peso en las crías al nacimiento [2]. Sin embargo, en nuestros experimentos no fue así, el suplemento dado diariamente a las madres del grupo SAPE contenía 10.8 mg de θ -3, cantidad baja comparada con la usada en otros estudios en los cuales estas sustancias se dan en el orden de 1g/100g de dieta, con efectos benéficos [11-15-23-26-40], o efectos adversos cuando las concentraciones de θ -3 suministradas en el aceite de pescado son relativamente altas [32,44] Cabe hacer notar que una rata adulta consume diariamente entre 25-40 g de dieta balanceada, según del estado fisiológico en que se encuentre [4]. Por tanto, es probable que la dosis usadas en este trabajo hayan proporcionado el equivalente en DHA y EPA necesario para evaluar el posible efecto protector del APE sobre el sistema nervioso, bajo una condición adversa como en este caso fue la hipertermia, sin alterar otros parámetros vitales para el crecimiento y desarrollo, mismos que tampoco se alteraron en los sujetos del grupo alimentado con aceite de palma, pero en los que se observó un efecto adverso y severo durante la hipertermia.

Uno de los principales objetivos de este trabajo fue probar la hipótesis de si el suministro crónico de APE inducía resistencia a la hipertermia y por lo tanto a la presentación y severidad de las convulsiones que frecuentemente están asociadas a un estado de fiebre. Observamos que las crías del grupo SAPE mostraron resistencia a la elevación de la temperatura corporal durante el tiempo que duró la hipertermia experimental (situación que no se observó en las crías de los grupos SAPA y CTRL, las cuales presentaron altas temperaturas desde los primeros 12 min del experimento). Una de las posibles explicaciones a este resultado, es que dado que la temperatura corporal es regulada principalmente por el hipotálamo, es probable que los θ -3 estuvieran actuando a nivel de esta estructura, y esto pudiera dar cuenta de la mayor resistencia a la elevación de la temperatura observada en los sujetos del grupo SAPE. Esta posible explicación pudiera no tener un sustento debido a la temprana edad de los sujetos (5 días) y la consecuente inmadurez de estos mecanismos regulatorios en el hipotálamo a esta temprana edad; sin embargo, se ha observado en ratas de 6-8 días de edad una disminución de la temperatura corporal provocada por la administración de morfina (agonista opioide), lo cual muestra que el cerebro inmaduro es capaz de regular la temperatura a edades tempranas [5]. Se ha reportado que los compuestos opioides tienen efecto sobre la temperatura corporal, según la especie, ruta de administración, dosis, temperatura ambiente y edad [1]. En la rata adulta, la morfina (agonista opioide) causa generalmente hipertermia a dosis bajas, mientras que a dosis altas causa hipotermia [45]. Hasta nuestro conocimiento, parece no haber datos disponibles acerca del efecto de los θ -3 en ratas neonatas bajo hipertermia; sin embargo, es posible que de alguna manera, la administración de θ -3 haya influido en el adecuado funcionamiento de los receptores opioides específicos y por tanto, ésto haya contribuido a mantener una baja temperatura en las condiciones de hipertermia. En apoyo a esta propuesta, se ha reportado que el receptor opioide μ requiere de lípidos para su adecuado funcionamiento [18,31]. Estudios recientes realizados en humanos reportan que la aplicación de aceite de pescado bajo un cuadro de fiebre inducida por la aplicación de lipopolisacárido (toxina de la pared bacteriana), bloqueó el incremento de la temperatura corporal y la respuesta endocrina asociada al estrés [33,38]. Asimismo se ha reportado una menor activación del sistema nervioso simpático y de hormonas relacionadas con estrés en sujetos que consumieron aceite de pescado durante tres semanas previas a una situación estresante [12]. Al considerar estos resultados, no es ilógico pensar que en los experimentos del presente trabajo, pudiera haberse dado un bloqueo al incremento de la temperatura corporal similar, de tal manera que la suplementación alimenticia con lípidos insaturados del tipo θ -3 pudiera haber afectado de alguna manera la funcionalidad de los receptores μ ya que sólo los sujetos del grupo SAPE mostraron esta resistencia a la elevación de la temperatura.

El poder determinar el o los mecanismos por los cuales los θ -3 dados como suplemento crónico en el aceite de pescado, pudieran modificar la funcionalidad del sistema opioide a nivel del hipotálamo es

complejo; sin embargo, esta posible explicación es viable con base en estudios relacionados [[18-31-33-38](#)].

Spirer [[47](#)] había propuesto que una “apropiada” dosis diaria de θ -3 pudiera prevenir la aparición de un estado de fiebre con convulsiones. Los autores especularon que el efecto terapéutico de estos ácidos grasos pudiera deberse a la modulación en la activación de la interleucina-1 β (IL-1 β), y no a la inhibición o bloqueo total de esta citocina. Recientemente se ha observado un incremento de IL-1 β en ratas neonatas sometidas a convulsiones por hipertermia; dicho incremento fue significativo en el hipotálamo y en el hipocampo de estos animales, lo que sugiere que las cantidades mayores encontradas en esta estructura pudieran iniciar el proceso de convulsiones mientras el hipotálamo mantiene la síntesis de IL-1 β [[20,37](#)]. No se conoce el mecanismo de cómo IL-1 β facilita la aparición de convulsiones bajo hipertermia; se ha observado que esta citosina actúa a través del receptor IL-IRI al facilitar la activación de receptores glutamatérgicos. Tal facilitación se ha observado en cultivos de células de hipocampo y es mediada por fosforilación de la subunidad NR2A/B de los receptores NMDA [[51](#)]. En el presente trabajo, una convulsión se manifestó cuando el sujeto, después de caminar con movimientos intermitentes de la cola, se detenía y perdía el control de la postura, para colocarse en decúbito lateral, con contracciones o no de los miembros y no podía volver a incorporarse, por lo que caía repetidamente en una posición de decúbito lateral o decúbito ventral. Los sujetos del grupo SAPE tardaron más tiempo en manifestar estas conductas y presentaron un menor número y más corta duración de estos eventos que los observados en las crías del grupo SAPA y CTRL. Con base en estas observaciones, es posible sugerir que durante la hipertermia se pudiera haber generado un estado de stress, así como procesos inflamatorios de los diferentes tejidos en los animales, factores que pudieron haber activado la síntesis de IL-1 β , debido a que los sujetos tratados con θ -3 se observó una menor frecuencia y severidad de las crisis por hipertermia, es posible pensar que en el grupo SAPE la activación de IL-1 β pudo ser menor, mientras que en los sujetos de los grupos SAPA y CTRL la activación pudo haber sido mayor.

Es muy probable que pudieran existir otras causas que activaron el estado convulsivo tan severo observado en los sujetos de los grupos CTRL y SAPA y que posiblemente fueron contrarrestadas en los sujetos que recibieron el APE (grupo SAPE). Una de ellas podría ser la protección de la membrana neuronal contra daño por el calor, o la reparación de tales daños con mayor eficacia y prontitud. En éste sentido, se ha propuesto que la excitación sináptica promueve la activación de las fosfolipasas en la membrana, las cuales consecuentemente liberan de los reservorios de fosfolípidos en la membrana moléculas lipídicas mensajeras muy activas [[7](#)]. Una de ellas es el factor de agregación plaquetaria (FAP), el cuál es un mensajero muy potente que activa la reparación y el remodelamiento de la membrana neuronal dañada. El FAP no se almacena estructuralmente en la membrana sino que bajo estimulación es sintetizado rápidamente [[7](#)]. Para la síntesis del FAP y de otros factores como la prostaglandina endógena 2 (PGE2) la cual, al parecer, puede participar en la regulación de la excitabilidad de la membrana vía el monofosfato de adenosina [[12](#)], es indispensable que la membrana neuronal tenga niveles óptimos de DHA para llevar al cabo las funciones neuronales en condiciones óptimas [[24](#)]. Así pues, es probable que en el grupo SAPE, una suplementación de este tipo de omega 3 adicionado a la dieta diaria, haya inducido o facilitado la mayor síntesis de FAP y por tanto, ésto se haya traducido en una mayor resistencia a presentar hipertermia y en una menor frecuencia y severidad de las crisis convulsivas inducidas por ésta.

Conclusiones

El suministro crónico de aceite de pescado dado como complemento de la dieta diaria a ratas madres se asoció en sus crías macho de 5 días de edad, con una mayor resistencia a la elevación de la temperatura corporal, así como a una baja frecuencia, menor duración y severidad de las crisis convulsivas inducidas por hipertermia experimental

Agradecimientos

Agradecemos a la Dra. Sandra Orozco-Suárez, por su asesoría en el desarrollo del modelo experimental de hipertermia, así como a la empresa **ZONE/DIET®** por la aportación de aceite de pescado utilizado en esta investigación.

Referencias

1. Adler M. W., Geller E. B. (1993). Physiological functions of opioid temperature regulation. En *Opioid II*. Herz A. (eds.) pp 205-238, Springer-Verlag, Berlin.
2. Amusquivar E., Rupérez F. J., Barbas C., Herrera E. (2000). Low Arachidonic Acid Rather than α -Tocopherol is Responsible for the Delayed Postnatal Development of Offspring of Rats Fed Fish Oil Instead of Olive Oil during pregnancy and Lactation. *J. Nutr.* **130**: 2855-2865.
3. Arias C., Tapia R. (1992). Inhibition of Glutamate Decarboxylase Activity is related to Febrile Seizures in Rat Pups. *J. Neurochem.* **45**: 369-373.
4. Baker H. J., Lindsey J. R., Weisbroth S. H. (1979). *The laboratory Rat*. Vol. 1 Ed. Academic Press, New York.
5. Colman S. A., Miller H. J. (2002). μ -1 Opioid receptor stimulation decreases body temperature in conscious, unrestrained neonatal rats. *Exp. Biol. Med.* **227**: 3777-381.
6. Baram T. Z., Gorth T. A., Schultz L. (1997). Febrile seizures: an appropriate-aged model suitable for long-term studies. *Dev. Brain. Res.* **98**: 265-270.
7. Bazan G. N. Lipid Signaling in Neural Plasticity, Brain Repair, and Neuroprotection (2005). *Mol. Neurobiol.* **32**, 89-103.
8. Benatti P., Peluso G., Nicolai R., Calvani M. (2004). Polyunsaturated fatty acids: Biochemical, nutritional and epigenetic properties. *J. Am. Col. Nutr.* **23**: 281-302.
9. Blondeau N., Widmann C., Landusky M., Heurteaux C. (2002). Polyunsaturated Fatty Acids Induce Ischemic and Epileptic Tolerance. *Neurosci.* **100**: 231-241.
10. Chalon S., Vancassel S., Zimmer L., Guilloteau D., Durand G. (2001), Polyunsaturated fatty acids and cerebral function: focus on monoaminergic neurotransmission. *Lipids* **63**, 937-944.
11. Chen C., Bazan N. G. (2005). Endogenous PGE2 regulates membrane excitability and synaptic transmission in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J. Neurophysiol.* **93**: 929-941.
12. Delanue J., Matzinger O., Binnert C., Schneiter P., Chioléro R., Tappy L (2003). Fish oil prevents the adrenal activation elicited by mental stress in healthy men. *Diab. Metab.* **29**: 289-295.
13. Dube C., Chen K., Ahmadi E. M., Brunson Ch., Soltesz I., Baram T. Z. (2000). Prolonged febrile seizures in the immature rat model enhance hippocampal excitability long-term. *Ann. Neurol.* **47**: 336-344.
14. Eugène I., Depienne CH., Baulac S., Baulac M., Fritschy J. M., LeGuern E., Miles R., Poncer C. J., (2007). GABA_A Receptor γ 2 Subunit Mutations Linked to Human Epileptic Syndromes Differentially Affect Phasic and Tonic Inhibition. *J. Neurosci.* **27**: 14108-14116.
15. Fernández R., Piechnik J. Fabris R., Malnic G., Fernández L. G. (2004). Effect of chronic fish oil supplementation on renal function of normal and cachectic rats. *B. J. Med. Biol. Res.* **37**: 1481-1489.
16. Gawrisch K, Eldho N, Holte L. (2003). The structure of DHA in phospholipid membranes. *Lipids* **38**: 445-452.
17. Haag M. (2003). Essential Fatty Acids and the Brain. *Can. J. Psych.* **48**: 195-203.
18. Hasegawa J. H., Loh H. H., Lee M. N. (1987). Lipid Requirement for μ Opioid Receptor Binding. *J. Neurochem.* **49**: 174-182.
19. Hauser W. A., Hesdorffer D. C. (1991). Epidemiology of Epilepsy, en *Neuroepidemiology*: Attribute to Bruce Schoenberg, W. Anderson SRC Ed., Dallas Press, pp. 97-119.
20. Heida G. J., Pittman Q. (2003). Causal Links between Brain Cytoquines and Experimental Febrile Convulsions in the rat *Epilepsia* **46**: 1906-1913.
21. Ikemoto A., Ohishi M., Sato Y., Hata N., Misawa Y., Fujii Y., Okuyama H., (2001). Reversibility of n-3 fatty acid deficiency-induced alterations of learning behavior in the rat: level of n-6 fatty acids as another critical factor. *J. Lip. Res.* **42**: 1655-1663.
22. Jones T., Jacobsen S. J. (2007). Childhood Febrile Seizures: Overview and Implications. *I. J. Med. Sci.* **4** (2): 110-114.
23. Joshi C., Wawrykow T. P., Prasad A. (2005). Do clinical variables predict an abnormal EEG in patients with complex febrile seizures. *Seizure* **14**:429-434.
24. Kang X. J., Leaf A. (1996). Evidence that free polyunsaturated fatty acids modifies Na⁺ channels by directly binding to the channel protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **93**: 3542-3546.
25. Karande S. (2007). Febrile Seizures: A review for family physicians. *Indian J. Med. Sci.* **61**: 161-172.
26. Kikugawa K., Yasuhara Y., Ando K., Koyama K., Hiramoto K., Susuki M. (2003). Protective Effect of Supplementation of Fish oil with High n-3 Polynaturated Fatty Acids against Oxidative Stress- Induced DNA Damage of Rat Liver in Vivo. *J Agr. Food Chem.* **57**: 6073-6079.
27. Knudsen F. U. (1996). Febrile seizures- treatment and outcome. *Brain Dev.* **18**: 438-449.
28. Lau C. S. (2006). Collateral benefits of fish oil therapy for rheumatoid arthritis *J. Rheumatol.* **33**: 1931-1933.
29. Lauritzen I., Blondeau N., Heurteaux C., Widmann C., Romey G., Lazdunski M. (2000). Polyunsaturated Fatty Acids are potent neuroprotectors. *J. EMBO* **17**(19B): 1784-1793.
30. López-Condes I., Early childhood prolonged febrile convulsions, atrophy and sclerosis of mesial structures, and temporal lobe epilepsy: an MRI volumetric study. *Neurol.* **43**: 1083-1087.

31. Matta J. A., Miyares R. L., Ahern G. M. (2007). TRPV1 is a novel target for omega-3 polyunsaturated fatty acids. *J. Physiol.* **15** : 397-441.
32. Miret S., Sáiz M. P., Mitjavila M. T. (2003). Effects of fish oil and olive oil-rich diets on iron metabolism and oxidative stress in rats. *B.J. Nutr.* **89**: 11-18.
33. Michaeli B., Berger, M. M., Revelly J. P., Tappy L., Chioléro R. (2007). Effects of fish oil on the neuro-endocrine responses to endotoxin challenge in healthy volunteers. *Clin. Nutr.* **26**: 70-77.
34. Megli F. M., Sabatini K. (2003). ERP studies of phospholipids bilayer after lipoperoxidation. I. Inner molecular order and fluidity gradient. *Chem. Phys. Lip.* **125**: 161-172.
35. Mohebbi M. R., Navipour R., Sevedkazemi M., Zamanian H., Khamseh F. (2004). Adult-onset epilepsy and history of childhood febrile seizures: a retrospective study. *Neurol. Ind.* **52**: 463-465.
36. Nakayama J, Arinami T. (2006). Molecular genetics of febrile seizures. *E. J. Neurosci.* **10**: 2573-80.
37. Patel H.C., Ross F.M., Heenan L.E., Davies R.E., Rothwell N. J., Allan S.M. (2005). Neurodegenerative actions of interleukin-1 in the rat brain are mediated through increases in seizure activity. *Epilep. Behav.* **6**: 328-36.
38. Pluess T. T., Hayoz D., Berger M. M., Tappy L., Revelly P. Y., Michale B., Carpentier I., Chioléro R. (2007). Intravenous fish oil blunts the physiological response to endotoxin in healthy subjects. *Intensive Care Med.* **33**: 789-797.
39. Racine R.J., (1972). Modification of Seizure Activity by Electrical Stimulation. II Motor Seizure. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* **32**: 281-294.
40. Rustan A.C., Hustvedt B. E., Drevon C.A., (1993). Dietary supplementation of very long-chain n-3 fatty acids decreases whole body lipid utilization in the rat. *J. Lipid Res.* **34**:1299-1309.
41. Schlanger S., Shinitzky M., Yam D., (2002) Diet enriched with Omega-3 acids alleviates convulsion symptoms in epilepsy patients. *Epilepsia*, **43**: 103-104.
42. Schuchmann S., Schmitz D., Rivera C., Vanhatalo S., Salmen B., Mackie K., Sipila T. S., Voipio J., Kaila K. (2006). Experimental febrile seizures are precipitated by hypertermia-induced respiratory alkalosis. *Nat. Med.* **12**: 817-823.
43. Sokol DK, Demyer W. E., Brown M. E., Sanders S., Garg B. (2003) From swelling to sclerosis: acute change in mesial hippocampus after prolonged febrile seizure. *Seizure* **12**: 237-240.
44. Song J. H., Miyazawa M. (2001). Enhanced levels of n-3 fatty acids in membrane phospholipids induce lipid peroxidation in rats fed dietary docosahexanoic acid oil. *Atherosclerosis*, **155**: 9-18.
45. Spencer R.L., Hruby V. J., Burks T. F. (1988). Body temperature response profiles for selective μ delta and kappa opioid agonist in restrained and unrestrained rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **246**: 92-101.
46. Sperber E. F., Veliskowa J., Germano I. M., Friedman L. K., Moshe S. L. (1999). Age-dependent vulnerability to seizures. *Adv. Neurol.* **79**: 161-169.
47. Spierer Z. K., Finkelstein A., Jurgenson U. (1994). Prevention of febrile seizures by dietary supplementation with N-3 polyunsaturated fatty acids. *Med. Hip.* **43**: 43-45.
48. Stillwell W., Shaikh R. S., Zerouga M., Siddiqui R., Wassall R. S. (2005). Docosahexanoic acid affects cell signaling by altering lipid rafts. *Rep.Nut.Dev.* **45**: 559-579.
49. Takeuchi T., Fukumoto Y., Harada E. (2002). Influence of dietary n-3 fatty acid deficiency on the cerebral catecholamine contents, EEG and learning ability in rat. *Behav. Brain Res.* **131**: 193-203.
50. Valenzuela A., Nieto S. (2001). Acido docosahexaenoico (DHA) en el desarrollo fetal y en la nutrición materno-Infantil. *Rev. Med. Chil.* **129**: 1203-1211.
51. Viviani B., Bartesaghi S., Gardoni, F., Vezzani A., Behrens, M.M., Bartfai T., Binaglia M., Corsini E., DiLuca M., Galli C. L., Marinovich M. (2003). Interleukin-1beta enhances NMDA receptors-mediated intracellular calcium increase through activation of SER family of kinases. *J. Neurosci.* **23**: 8692-8700.
52. Voskuyl R. A., Vreugdenhil M., Kang J. X., Leaf A. (1998). Anticonvulsant effect of polyunsaturated fatty acids in rats, using cortical stimulation model. *E. J Pharmacol.* **341**: 145-152.
53. Xiao Y., Li X. (1999) Polyunsaturated fatty acids modify mouse hippocampal neuronal excitability during excitotoxic or convulsant stimulation. *Brain Res.* **846**: 112-121.
54. Yehuda S., Rabinovitz E., Mostofsky D. L. (1999). Essential fatty acids are mediators of brain biochemistry and cognitive function. *J. Neurosc. Res.* **56**: 565-570.